

POSTNATALE ENTWICKLUNG UND
CANCEROGENE WIRKUNG BEI NMRI-MÄUSEN
NACH DER KOMBINATIONSBEHANDLUNG MIT
RÖNTGENSTRAHLEN UND ETHYLNITROSOHARNSTOFF
AN VERSCHIEDENEN TAGEN DER FETALPERIODE

ALFONS WIGGENHAUSER

~~1986~~

Disbui. München

1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Nuklearbiologie der Gesellschaft für
Strahlen- und Umweltforschung mbH München
Leiter: Prof. Dr. H. Kriegel

Arbeit angefertigt unter Leitung von
PD Dr. Dr. habil. W. Schmahl

Vorgelegt über den
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München
Vorstand: Prof. Dr. E. Dahme

Postnatale Entwicklung und cancerogene Wirkung
bei NMRI-Mäusen nach der Kombinationsbehandlung
mit Röntgenstrahlen und Ethylnitrosoharnstoff
an verschiedenen Tagen der Fetalperiode

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität

von
Alfons Wigggenhauser
aus
Rainau-Schwabsberg

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. E. Dahme

Korreferent: Prof. Dr. R. Schulz

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

Die Kunde von dem neuen Reichstag
die die Verfassung
die die Verfassung
die die Verfassung

Meinen lieben Eltern

Frankfurt, 1848

Die Forderung nach einer kausalen Analyse
ist die Voraussetzung
einer reinen
Vernunft

Immanuel Kant

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. PROBLEMSTELLUNG	1
2. EINLEITUNG	4
2.1. Kombinationswirkungen	4
2.1.1. Begriffsbildungen	4
2.1.2. Konzepte der Dosis-Wirkungsbeziehungen	7
2.1.3. Kombination von ionisierenden Strahlen und chemischen Substanzen	9
2.1.3.1. Einleitung	9
2.1.3.2. Beispiele für Synergismen	10
2.2. Ethylnitrosoharnstoff (ENU)	11
2.2.1. Allgemeine biologische Wirkungen	11
2.2.2. Biochemische Aspekte der Cancerogenese durch ENU	13
3. MATERIAL UND METHODE	16
3.1. Ethylnitrosoharnstoff (ENU)	16
3.2. Röntgenbestrahlung	16
3.3. Versuchstiere	16
3.4. Versuchsablauf	17
3.5. Statistische Auswertung	19
3.5.1. Maßzahlen	19
3.5.2. Statistische Tests	20
3.5.2.1. Kontingenztafelanalyse	20
3.5.2.2. Kruskal-Wallis- und T-Test	20
3.6. Bewertung der Kombinationswirkungen	21
3.7. Literaturstudie zum Hämangiosarkom	21
3.8. Abkürzungen	22

4.	ERGEBNISSE	23
4.1.	Entwicklungsdaten zum Geburtszeitpunkt	23
4.2.	Postnatale Entwicklung	24
4.2.1.	Mortalitätsrate bis zum 12.Lebensmonat	24
4.2.2.	Kumulative Mortalitätsrate nach 12 Lebensmonaten	26
4.2.3.	Gewichtszunahme bis zum 12.Lebensmonat	27
4.3.	Übersicht über die Anzahl der unter- suchten Tiere	29
4.4.	Sektionsergebnisse	30
4.4.1.	Tumorfrequenzen in den einzelnen Versuchsgruppen	30
4.4.1.1.	Tumortragende Tiere/Gesamtzahl der untersuchten Tiere	30
4.4.1.2.	Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere	31
4.4.1.3.	Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere	32
4.4.1.4.	Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere	34
4.4.1.5.	Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere	35
4.4.1.6.	Anzahl der Lungentumoren/Lungentumor- tragendes Tier	36
4.4.2.	Verteilung der tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)	37
4.4.2.1.	Leukosen	37
4.4.2.2.	Lungentumoren	37
4.4.2.3.	Lebertumoren	38
4.4.2.4.	Ovartumoren	39
4.4.2.5.	Uterustumoren	40
4.4.2.6.	Hämangiosarkome	41
4.4.2.7.	Sonstige Tumoren	42

4.4.3.	Geschlechtliche Differenzierung	43
4.4.4.	Verteilung der tumorösen Erkrankungen bis zum 12. Lebensmonat	46
4.4.5.	Sektionsergebnisse vom 12. Lebensmonat	49
4.4.6.	Latenzzeitbestimmung	53
4.4.6.1.	Leukosen	53
4.4.6.2.	Lungentumoren	54
4.4.6.3.	Lebertumoren	55
4.4.6.4.	Ovartumoren	55
4.4.6.5.	Uterustumoren	56
4.4.6.6.	Hämangiosarkome	56
4.5.	Bewertung der Kombinationswirkungen in den Versuchsgruppen	57
4.5.1.	Tumorzufälle	57
4.5.2.	Verteilung der tumorösen Erkrankungen	62
4.5.3.	Kumulative Mortalitätsraten nach 12 Lebensmonaten	65
4.6.	Literaturübersicht zur Induktion von Hämangiosarkomen	66
5.	DISKUSSION	67
5.1.	Früheffekte	67
5.2.	Späteffekte	70
5.2.1.	Späteffekte nach der Bestrahlung	70
5.2.2.	Späteffekte nach der Applikation von ENU	74
5.2.3.	Späteffekte nach der Kombinations- behandlung X+ENU und ENU+X	83
5.3.	Beispiele und Mechanismen synergistischer Effekte für die Kombinationssequenz X+ENU	87
5.4.	Beispiele und Mechanismen synergistischer Effekte für die Kombinationssequenz ENU+X	91
5.5.	Synopsis	94



6.	ZUSAMMENFASSUNG	95
7.	SUMMARY	96
8.	TABELLEN	97
8.1.	Ergebnisse	97
8.2.	Literaturstudie	122
9.	ABBILDUNGEN	138
10.	LITERATURVERZEICHNIS	157

1. Problemstellung

In der Bundesrepublik sind laut Chemikaliengesetz über 53000, in der EG etwa 100000 chemische Stoffe gemeldet (Bundesregierung/BRD 1986).

Durch die Stichtagsregelung des § 4, Abs. 5, Chemikaliengesetz vom 16. September 1980, werden erst nach dem 18. September 1981 chemische Stoffe vor dem Inverkehrbringen einem gesetzlich geregelten Zulassungsverfahren unterzogen, um präventiv die "Sicherung des Menschen am Arbeitsplatz wie auch in seiner privaten Sphäre und den Schutz der Umwelt vor schädlichen Chemikalien" zu gewährleisten.

Bis zum Jahre 1985 war unter diesem Prüfverfahren mit zunehmender Tendenz eine Innovationsrate von 31 (BRD) bzw. 130 (EG) Chemikalien zu verzeichnen.

Läßt man die Vielzahl der nicht näher analysierten und quantifizierten chemischen Verbindungen, die zum Beispiel durch Verbrennungsprozesse entstehen, außer acht, so erhebt sich schon bei den zahlreich gemeldeten xenobiotischen Stoffen die berechtigte Frage, ob es mit der ubiquitär vorhandenen Strahlung nicht zu einer Interaktion kommen kann, die zu einer mehr als additiv schädigenden Wirkung führt.

Obwohl unter dem Begriff "schädigende Wirkung" auch genetische Effekte verstanden werden können, scheint es sinnvoll, zuvorderst den radiobiologischen Endpunkt einer Krebsinduktion zu untersuchen, da der Anteil menschlicher Krebserkrankungen, die durch umweltbedingte Faktoren ausgelöst werden, auf 50 % bis 90 % aller Fälle geschätzt wird (WHO 1964, Royland 1969).

Das Problem der Interaktion von Bestrahlung und einem chemischen Agens wurde im UNSCEAR-Bericht (1982) zum erstenmal unter wissenschaftlichen Gesichtspunkten bearbeitet und die Begriffe Synergismus, Addition und Antagonismus definiert. Am Beispiel von rauchenden Uranminenarbeitern wurde gezeigt, daß der Zigarettenrauch auf die Dauer der Latenzzeit von Lungentumoren einen promovierenden Effekt haben kann, was als synergistische Interaktion zu werten ist.

Von praktischem Interesse für Wechselwirkungen mit der Bestrahlung sind in erster Linie solche chemischen Stoffe, die selbst cancerogen sind (Iljin et al. 1979).

Aus diesem Grunde wurde für die vorliegende Kombinationsuntersuchung aus der Gruppe der hoch karzinogenen N-Nitroso-Verbindungen der Ethylnitrosoharnstoff als chemisches Agens ausgewählt.

Obwohl der direkte Nachweis einer krebserzeugenden Wirkung am Menschen noch aussteht, ist aufgrund von epidemiologischen Daten und Tierversuchsergebnissen bei 26 N-Nitroso-Verbindungen eine krebserzeugende Wirkung beim Menschen anerkannt worden (Eisenbrand 1981).

Für die Durchführung der Kombinationsbehandlung wurde das besonders sensible System des fetalen Organismus von NMRI-Mäusen gewählt.

Es ließ sich im Tierexperiment wiederholt bestätigen, daß kleinste Dosen bestimmter pränatal wirksamer Carcinogene, die für das erwachsene Tier völlig unschädlich waren, bei der Mehrzahl der Nachkommen im überwiegend jugendlichen Alter zur Entwicklung von Krebs führten (Ivankovic 1975).

Auch kann von einem typischen kindlichen Krebs gesprochen werden (Leukosen, Lymphome, Tumoren des Nervensystems usw.), der nicht, wie beim sog. Berufskrebs des adulten Menschen, eine Latenzzeit von Dezennien hat. Die Verursachung ist daher wahrscheinlich in der vorgeburtlichen Lebensphase zu suchen.

Wie teratologische Untersuchungen, aber auch Arbeiten zur pränatalen Cancerogenese gezeigt haben, liegt vielfach ein phasenspezifisches Induktionsmuster bestimmter Mißbildungen bzw. Tumoren vor, so daß bei der Ausprägung dieser Veränderungen von einem vorwiegend endogenen Einfluß ausgegangen werden kann, unkontrollierbare exogene Faktoren dagegen in den Hintergrund treten.

So scheint der fetale Organismus nicht nur geeignet, um synergistische Effekte nach der Kombinationsbehandlung von Röntgenstrahlen und Ethylnitrosoharnstoff mit einem Expositionsintervall von 4 Stunden zu erfassen, sondern auch die Interpretation der auftretenden Effekte zu begünstigen.

Durch die Registrierung phasenspezifischer (Behandlung am 14., 15. bzw. 16. Gestationstag) und sequenzieller Einflüsse der Behandlungsfolge wird die Abhängigkeit von endogenen Parametern dargestellt.

Der Diskussion über verantwortliche Mechanismen der Interaktion von Kombinationsbehandlung und Organismus, wie sie in der Literatur geführt wird, schließt sich eine Risikoabschätzung des vorliegenden Behandlungsschemas auf die Tumorinduktion an.

2. Einleitung

2.1. Kombinationswirkungen

2.1.1. Begriffsbildungen

Schon in den 20iger Jahren wurden die Auswirkungen der Arzneikombinationen von dem Pharmakologen Loewe in grundlegenden Arbeiten abgehandelt.

Sein Verdienst war es, den Bezeichnungen "Synergismus", "Antagonismus", "Addierung" und "Potenzierung" erstmals einen theoretischen Überbau zu schaffen.

Er ging dabei nicht von der Endwirkung der Kombinationsbehandlung aus, sondern umgekehrt vom Verlauf der Einzelwirkungen der Mischstoffe (... die Wirkung einer Arzneikombination zerfällt in die einzelnen Teilwirkungen...) und zeigte, zu welchem "Enderfolg" die Kombination führen kann (... für deren jede die Kombinationsfrage gesondert aufzuwerfen ist...).

In der Kombination unterschied er "varierte" und "unvariierte" Teilwirkungen eines einzelnen "Paarlings" und ließ damit schon Überlegungen in die Bewertung der Kombinationsbehandlungen einfließen, die im UNSCEAR-Bericht (1982) als Isoaddition und Heteroaddition näher definiert sind.

Der Vielzahl der möglichen Pharmakombinationen von Loewe (1928) stellte Junkmann (1932) ein zweckmäßigeres Modell gegenüber, das allein die Endwirkungen der Kombinationen erfasste und für die "Paarlänge" nur noch eine Beeinflussung im Sinne eines Synergismus bzw. Antagonismus beschrieb.

Der Begriff Synergismus wird demnach untergliedert in Sensibilisierung, Addition und Potenzierung.

Unter Sensibilisierung ist zu verstehen, daß ein Kombinationspartner die Wirkung des anderen nicht hat, sie aber trotzdem verstärken kann.

Die Desensibilisierung ist respektive umgekehrt definiert.

Addition entspricht der Summe der Einzelwirkungen.

Bei der Potenzierung ist das Resultat der Kombinationsbehandlung noch größer als additiv.

Der Antagonismus unterscheidet eine schon oben beschriebene Desensibilisierung, einen subtraktiven (bzw. additiven) Antagonismus, wenn die Einzelwirkungen der Paarlinge entgegengesetzt gerichtet waren, oder, wenn diese umgekehrte Wirkung noch übertroffen wurde, "ein Gegenteil der Potenzierung".

Während Junkmann (1932) den Synergismus im Rahmen seines dualen Bewertungssystems (Synergismus - Antagonismus) für die Arzneikombinationen der Sensibilisierung, Addition und Potenzierung als Überbegriff zugeordnet hatte, stellten 1979 Steel und Peckham den Synergismus für den Bereich der Radio- und Chemotherapie mit der Addition gleichwertig auf eine Stufe.

Die Kombinationseffekte mit ionisierenden Strahlen sind im UNSCEAR-Bericht (1982) definiert.

Sie werden in 2 Klassen eingeteilt:

1. Klasse: Sowohl die ionisierenden Strahlen als auch das kombinierte Agens zeigen eine Wirkung.
2. Klasse: Das mit den ionisierenden Strahlen kombinierte Agens ist inert.

Die 1. Klasse hat 3 Kombinationstypen:

- a) Wenn der Endeffekt der Kombinationsbehandlung gleich der Summe der Effekte der unabhängig voneinander wirkenden Einzelbehandlungen ist, spricht man von Addition.
- b) Wenn die Kombinationsbehandlung diese Summe überschreitet, liegt ein Synergismus vor.
- c) Wenn die Summe unterschritten wird, ist dagegen ein Antagonismus gegeben.

In der Klasse 2 sind einzig die ionisierenden Strahlen das effiziente Agens:

- a) Wenn die Dosis einer Bestrahlung bei Anwesenheit einer modifizierenden Substanz größer sein muß, um einen bestimmten Effekt zu erzielen, so wird dies als Protektion beschrieben.
- b) Wird dagegen eine geringere Strahlendosis gebraucht, so spricht man von einer Sensibilisierung.

An anderer Stelle im UNSCEAR-Bericht (1982) bewertet ein Interaktionsfaktor die Induktion Y bzw. den Schweregrad Y eines entsprechenden Effektes, der aus der Exposition X resultiert, mit den Begriffen Synergismus, Addition und Antagonismus. Ist der Interaktionsfaktor, das heißt der Quotient aus beobachteten und erwarteten Wirkungen zweier simultaner, aber unabhängig voneinander agierender Kräfte gleich 1, liegt eine Addition, ist er größer als 1, ein Synergismus, ist er kleiner als 1, ein Antagonismus vor.

Der Begriff Antagonismus wird von Phillips (1977) weiter differenziert:

Als Subaddition wird der Kombinationseffekt bezeichnet, wenn er kleiner als die algebraische Summe der Effekte der Einzelbehandlungen, aber größer als die der entsprechenden Einzelbehandlungen ausfällt.

Eine Interferenz liegt vor, wenn das Ergebnis der Kombinationsbehandlung zwischen den Ergebnissen der jeweiligen Einzelbehandlungen zu liegen kommt.

Von einem Antagonismus spricht Phillips (1977) erst dann, wenn nach der Kombinationsbehandlung der Effekt kleiner ist als nach der Einzelbehandlung mit dem ineffizientesten der beiden Agonisten.

2.1.2. Konzepte der Dosis-Wirkungsbeziehungen

Während im Vorhergehenden die Endeffekte einer Kombinationsbehandlung in Bezug auf die entsprechenden Einzelbehandlungen definiert wurden, werden im Folgenden Konzepte vorgestellt, die für die Bewertung von Kombinationsbehandlungen im Bereich von X_1 bis X_2 linearer und nicht-linearer Dosis-Wirkungsbeziehungen angewandt werden können.

Eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung liegt vor, wenn eine Verdoppelung der Dosis auch eine Verdoppelung des Effektes bedeutet.

Wenn nun zwei Substanzen unabhängig voneinander eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung ergeben, so kann dies in einem Diagramm, einem Isobologramm, dargestellt werden.

Die Aufsummierung der beiden linearen Dosis-Wirkungsbeziehungen stellt sich in der Graphik, dem Isobologramm, als sogenannte Isoeffektkurve dar.

Werden die beiden Substanzen bzw. deren Dosis-Wirkungsbeziehungen kombiniert, so liegt folglich eine Addition vor, wenn das Ergebnis auf der Isoeffektkurve zu liegen kommt.

Kombinationsergebnisse diesseits und jenseits der Isoeffektkurve werden als Synergismus bzw. Antagonismus interpretiert. Diese Form der Dosis-Wirkungsbeziehung stellt aber einen Idealfall dar.

Realistischer ist dagegen, daß die Dosis-Effektkurve von wenigstens einem der beiden zu kombinierenden Agentien von der Linearität abweicht.

Werden die Kurven aufsummiert, so soll nun an einem Beispiel gezeigt werden, daß die Addition der beiden Kombinationspartner auf zweierlei Weise, als Heteroaddition und als Isoaddition, durchgeführt werden kann (UNSCEAR 1982).

Wenn zum Beispiel die Bestrahlung A und eine Substanz B einen Effekt durch unterschiedliche Reaktionsmechanismen bewirken, so wird die Aufsummierung von deren Effekten als Heteroaddition bezeichnet.

Ist der Reaktionsmechanismus von der Bestrahlung A und Substanz B dagegen ähnlich oder sogar identisch, so liegt der aufsummierte Gesamteffekt als Isoaddition vor.

Nebenbei sei erwähnt, daß die verschiedenen Interaktionsmöglichkeiten zweier Agentien an einem Target an anderer Stelle (Gerber 1982) wie folgt beschrieben sind:

Wirken Substanzen parallel auf ein Zielorgan ein und wird der Gesamteffekt durch deren gleichzeitige Präsenz verstärkt, spricht man von einer parergischen Interaktion. Eine metergische Interaktion liegt dagegen vor, wenn die beiden Agentien an verschiedenen Stellen der Reaktionskette, die zu dem beobachteten Effekt führen, einwirken.

Für das zweite Interaktionsmuster ist der Zeitintervall zwischen der Applikation der beiden Agentien von besonderer Bedeutung. Als Beispiel sei an das Zweistufen-Cancerogenese-Modell von Initiation und Promotion erinnert.

Es ist offensichtlich, daß im Falle einer Isoaddition die Wirkung der Substanz B sehr viel effizienter ist, als im Falle einer Heteroaddition.

Um nun an diesem Beispiel einer realistischeren, nicht-linearen Dosis-Wirkungsbeziehung nach der Kombinationsbehandlung einen synergistischen oder antagonistischen Effekt aufzeigen zu können, ist als Vergleichskriterium zunächst die Summe der Einzeleffekte von Bestrahlung A und Substanz B zu bilden. Werden diese sowohl heteroadditiv als auch isoadditiv aufsummiert und in einem Isobologramm graphisch dargestellt, so wird eine Fläche gebildet, die als "Envelope of Additivity" in der Literatur (UNSCEAR 1982) beschrieben ist.

Steel und Peckham (1979) haben dies als Konzept für die Beurteilung von Synergismen im Rahmen der Radio- und Chemotherapie eingeführt.

Erst wenn der Effekt der kombinierten Behandlung von Bestrahlung A und Substanz B außerhalb des "Envelope of Additivity" zu liegen kommt, wird er je nach Lage im Isobologramm als Synergismus bzw. Antagonismus beurteilt.

Aber auch schon Abweichungen von der durch die Heteroaddition gebildeten Kurve, selbst wenn sie noch innerhalb des "Envelope of Additivity" liegen, werden von Steel und Peckham (1979) als "Steigerung" des Kombinationseffektes bewertet.

2.1.3. Kombination von ionisierenden Strahlen und chemischen Substanzen

2.1.3.1. Einleitung

Neben physikalischen (niedere LET-Strahlen, hohe LET-Strahlen, UV-Strahlen, elektromagnetische Strahlen, hohe Temperatur, niedere Temperatur, magnetische Felder, Ultraschall, Staub, Fasern) und biologischen (Hormone, Viren, Bakterien), sind vor allem chemische Agentien als Reaktionspartner der ionisierenden Strahlen für die Kombinationsbehandlung untersucht worden (UNSCEAR 1982).

Auf der Annahme basierend, daß alle diese Behandlungseffekte in irgendeiner Weise mit Veränderungen der DNA oder des Chromatins im Zellkern in Beziehung stehen, wurde von Streffer und Müller (1984) folgende Klassifizierung von chemischen Substanzen für die Diskussion von Kombinationswirkungen vorgeschlagen:

1. Metabolite und Basenanaloga des DNA-Stoffwechsels
2. Antibiotika und Substanzen, die den DNA-Repair hemmen
3. Nukleophile Agentien, die überwiegend mit Sulphydrylgruppen reagieren
4. Alkylierende Substanzen und andere "Initiatoren" der Cancerogenese
5. Substanzen mit hormonalen Aktivitäten
6. Umweltschadstoffe mit überwiegend elektroaffinen Eigenschaften

2.1.3.2. Beispiele für Synergismen

(Exklusive radiosensitivierende Substanzen)

Synergismen sind bei der Kombination von ionisierenden Strahlen mit Aktinomycin D (Kaplan 1977, Müller et al. 1982a), mit Cadmiumchlorid (Müller et al. 1982b) und mit Bleichlorid (Molls et al. 1983) beobachtet worden.

Die Substanzen wurden direkt vor der Behandlung mit Röntgenstrahlen in ein Kulturmedium gegeben.

Als Bewertungsparameter wurden

1. die Entwicklung von Embryonen vom Zweizellstadium bis zur Bildung bzw. dem Schlüpfen der Blastozysten,
2. die Zellproliferationskinetik in diesen Embryonen und
3. die Formation von Mikronuclei als ein Index für zytogenetische Schäden untersucht.

Bei oben aufgeführten Substanzen lag ein Synergismus für jeweils einen dieser Parameter vor.

Für die in vitro-Kombination von ionisierenden Strahlen und Coffein konnte bei sehr hohen Dosen ein Synergismus für alle drei Untersuchungsparameter aufgezeigt werden (Müller 1984).

Die bis hierher beschriebenen Arbeiten haben mehr unter dem toxikologischen als radiobiologischen Aspekt eine Bedeutung.

Von Sikov und Malhum (1974) konnte nach der Applikation von Pu 239 und Trypanblau an trächtige Ratten eine synergistische Zunahme von teratologischen und embryoziden Effekten beschrieben werden.

An anderer Stelle (Kusama et al. 1983) führte die Kombination von 1 oder 2 Gy Bestrahlung und 1 oder 2 mg Cortison bei am 7. Gestationstag behandelten Mäusen zu einer Mortalitäts- bzw. Mißbildungsrate, die ebenfalls als synergistische Interaktion bewertet wurde.

Die synergistische Wirkung von Bestrahlung und Coffein wurde auch in einem in vivo-Versuch nachgewiesen (Kusama et al. 1984).

Gammabestrahlung (0,5, 1,0 und 2,0 Grav) und sofort anschließende Coffeinapplikation (0,1 und 0,25 mg pro g Körpergewicht) an 7 Tage alten ICR-Mäuse-Embryonen resultierte in einer erhöhten Mortalitätsrate und erhöhten Inzidenz an Mißbildungen.

Mit dem Cancerogen ENU stellten Schmahl et al. (1978) in der Kombination mit ionisierenden Strahlen eine signifikante Erhöhung der Leukämie- und der Ovarialtumorrates, aber auch eine signifikant geringere Häufigkeit an Lungen- und Lebertumoren als nach der jeweiligen Einzelbehandlung fest.

Die pränatale Kombinationsbehandlung an den NMRI-Mäusen führte insgesamt nur zu einer additiven Zunahme der Gesamtzahl an Tumoren.

Streffer et al. (1984) schreiben denjenigen chemischen Substanzen eine Forcierung des Strahleneffektes zu, die die Zellproliferation steigern können.

Daraus leiten sich zwei Konsequenzen ab:

1. Die stimulierende Zellproliferation reduziert die Möglichkeit einer DNA-Reparatur oder führt zu einer frühzeitigen Fixation der Mutation (Zelltransformation).
2. Ruhende maligne Zellen besitzen spezifische Rezeptoren, die auch sehr viel später noch auf eine promovierende Substanz ansprechen können. Der Proliferationsstimulus erhöht sehr effektiv die Inzidenz von malignen Erkrankungen und reduziert die Latenzzeit.

2.2. Ethylnitrosoharnstoff (ENU)

2.2.1. Allgemeine biologische Wirkungen

ENU wird unter physiologischen Bedingungen sehr schnell (Halbwertszeit kleiner als 8 Min.) auf dem Wege einer nicht-enzymatischen Heterolyse zu einem hoch reaktiven Ethyldiazoniumion abgebaut (Goth et al. 1972). Nukleophile Stellen in den zellulären Makromolekülen aller Gewebe werden dabei in einem ungefähr gleichen Maße ethyliert (Craddock et al. 1984).

Trotz des anfänglich gleichgroßen Ethylierungsgrades aller Gewebe konnten Druckrey et al. (1967) in ihren Studien zur Carcinogenese der N-Nitroso-Verbindungen zeigen, daß ENU bei Ratten letztlich doch ein äußerst gewebespezifisches Carcinogen ist.

Eine einmalige Gabe von ENU an fetale oder neugeborene Ratten führte vor allem zu malignen neuroektodermalen Neoplasmen, während Tumoren in anderen Geweben als dem zentralen und peripheren Nervensystem selten auftraten.

Weitere Arbeiten von Druckrey et al. (1970) hatten zum Ergebnis, daß die Anzahl der neuroektodermalen Tumoren und die Latenzzeit sowohl von der applizierten ENU-Dosis, als auch vom verwendeten Rattenstamm abhängig sind. Auch konnte eine enge Korrelation zwischen neuroektodermaler Tumorzinzidenz und dem Entwicklungsstadium des Nervensystems zum Zeitpunkt der ENU-Applikation ermittelt werden.

Die höchste Sensitivität des Nervensystems für ENU besteht in der Zeit von der späten pränatalen bis zur frühen postnatalen Entwicklung der Ratte. Daher wurde für den carcinogenen Effekt von ENU eine umgekehrte Korrelation zum Entwicklungs- bzw. Differenzierungsstadium der Nervenzellen angenommen bzw. die Anwesenheit von proliferierenden nervalen Zellen zur Zeit der ENU-Applikation postuliert (Rajewsky 1985).

Arbeiten zur transplacentaren und neonatalen Cancerogenese durch ENU bei Mäusen (Rice 1969, Vesselinovitch et al. 1977) führten zu einem breiten Spektrum extraneurogener Tumoren, jedoch nur selten zu Tumoren des ZNS und PNS.

Bei dieser Tierspezies stand die Induktion von Tumoren in der Lunge im Vordergrund. Weniger häufig traten Leber- und Ovarialtumoren auf. Wiederum konnte eine Abhängigkeit vom pränatalen Alter zum Zeitpunkt der ENU-Applikation, vom Geschlecht und vom genetischen Einfluß auf die Inzidenz, die Multiplizität und das Spektrum der durch ENU induzierten Tumoren gezeigt werden.

Neben diesen carcinogenen Wirkungen von ENU bei verschiedenen Tierspezies wurden bei teratologischen Studien im Gehirn von Ratten auch cytotoxische Effekte beschrieben.

Der Stillstand der Mitoseaktivität, Degeneration und Nekrose von Zellen, aber auch die Elimination degenerierter Produkte durch phagozytierende Zellen und die Gewebereparatur, ausgehend von der Ventrikularzone des Telencephalons, wurden beobachtet (Fujiwara 1980).

Als weitere Eigenschaft von ENU wird von Scherf (1972) der pharmakologische Effekt einer immunsuppressiven Wirkung dargestellt.

2.2.2. Biochemische Aspekte der Cancerogenese durch ENU

Nach der Exposition mit ENU bilden sich in der chromosomalen DNA folgende ethylierte Moleküle:

- a) Moleküle, die durch die Ethylierung der Sauerstoffatome entstehen:

(machen ungefähr 80 % aller ethylierten Moleküle der DNA aus)

O6-Ethylguanin (ungefähr 10 %)

O2-Ethylthymidin (ungefähr 7 %)

O2-Ethylecytidin (ungefähr 4 %)

O4-Ethylthymidin (ungefähr 3 %)

Ethylphosphotriester (ungefähr 56 %)

- b) Moleküle, die durch die Ethylierung der Stickstoffatome entstehen:

N7-Ethylguanosin (ungefähr 14 %)

N3-Ethyladenosin (ungefähr 5 %)

N7-Ethyladenosin (ungefähr 0,4 %)

N1-Ethyladenosin (ungefähr 0,3 %)

N3-Ethylecytidin (ungefähr 0,2 %)

N3-Ethylguanosin (ungefähr 0,1 %)

N3-Ethylthymidin (ungefähr 0,1 %)

(Rajewsky 1985).

Die Carcinogenität von verschiedenen alkylierenden N-Nitroso-Verbindungen soll mit dem relativen Alkylierungsgrad der Sauerstoffatome im Vergleich zu den Stickstoffatomen in einem direkten Zusammenhang stehen (Margison et al. 1979).

Wie schon erwähnt, bietet der Grad der initialen Ethylierung von DNA-Basen verschiedener Ratten-Gewebe keine Erklärung für die Nervensystem-Spezifität der carcinogenen Wirkung von ENU.

Weder an fetalen und 10 Tage alten, noch an adulten BDIX-Ratten konnten bedeutende Unterschiede der DNA-Ethylierung zwischen dem für eine Krebsinduktion durch ENU äußerst sensiblen Gehirn und der weniger empfindlichen Leber festgestellt werden (Goth et al. 1974).

Doch zeigten kinetische Analysen, daß das O6-Ethylguanin, das offenbar notwendig ist, um die Carcinogenese durch ENU zu initiieren (Margison et al. 1979), sehr viel schneller aus der DNA der Leber als aus der des Gehirns entfernt wird (Goth et al. 1974). Chang und Koestner (1981) stellten in einer Studie an Organen von Sprague-Dawley-Ratten fest, daß die Persistenz von O6-Ethylguanin in der DNA in der Reihenfolge Leber - Nieren - Gehirn zunahm.

Obwohl Effekte, wie "Auswaschen" von O6-Ethylguanin durch schnell proliferierende Zellen berücksichtigt wurden (Cradock et al. 1984), war der Unterschied in der Eliminationsrate zwischen Gehirn- und Leber-DNA so groß, daß ein spezifisches Enzymsystem für die Erkennung und Aussonderung dieses speziellen Produktes angenommen werden muß (Rajewsky 1985).

O6-Methylguanin-DNA-Methyltransferase-Aktivitäten, die befähigt sind, Methyl- und weniger effektiv Ethylgruppen von der O6-Position in Guanin der DNA auf den Cysteinrest eines Acceptorproteins zu übertragen, sind aus der Ratten- und Mäuseleber isoliert worden (Pegg 1984).

Daß die Alkylgruppe auf den Cysteinrest eines spezifischen Alkylacceptorproteins transferiert wird, wurde von Lindahl (1982) als eine außergewöhnliche Form des DNA-Repairs be-

zeichnet.

Da zwischen den beiden Agonisten dieser Reaktion eine stöchiometrische Beziehung besteht (Pegg 1984, Setlow 1984), wird das Acceptorprotein aufgebraucht (Lindahl 1982). Daher hängt die Fähigkeit eines Organs, einen schnellen Repair auszuführen und somit die Replikation von alkylierter DNA zu vermeiden, von der Menge des vorliegenden Acceptorproteins ab.

Untersuchungen zur gewebespezifischen Cancerogenese von ENU konnten nun zeigen, daß in der Leber vergleichsweise mehr Acceptorprotein vorhanden ist als im Gehirn (Craddock et al. 1984, Pegg 1984), womit die Fähigkeit, O⁶-Ethylguanin zu reparieren, an die gewebespezifische Acceptorproteinmenge gekoppelt ist (Pegg 1984).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Bildung einer spezifisch strukturierten DNA-Base (O⁶-Ethylguanin) eine bedeutende Rolle in der Initiation eines cancerogenen Prozesses spielt und durch verschiedene Mechanismen zur Expression von malignen Phänotypen führen kann.

Enzymsysteme zur Erkennung, Elimination und Reparatur von kritischen Zellläsionen sind in verschiedenen Zelltypen, Geweben und Tierspezies unterschiedlich ausgeprägt.

Die Fähigkeit der Zellen, carcinogen modifizierte DNA zu reparieren, scheint eine der Determinanten für die Wahrscheinlichkeit einer malignen Transformation zu sein (Rajewsky 1985).

3. Material und Methode

3.1. Ethylnitrosoharnstoff (ENU)

1-Ethylnitrosoharnstoff (Sigma-Chemie München) wurde vor jeder Behandlung in einem Verhältnis von 10 mg ENU zu 1 ml steriler, 0,9 %iger Kochsalzlösung gelöst und der pH mit kristalliner Ascorbinsäure auf 4,5 eingestellt.

Das Versuchstier (Durchschnittsgewicht 35 g) erhielt 0,15 ml dieser ENU-Lösung, was 45 mg pro kg Körpergewicht oder etwa 1,5 mg ENU pro Muttertier entsprach.

3.2. Röntgenbestrahlung (X)

Die Bestrahlung wurde an den graviden Mäusen mit einer Müller-Röntgenanlage bei 180 kV und 10 mA durchgeführt. Eine Kupferplatte von 0,3 mm diente als Filter. Der Abstand zwischen Focus und Bestrahlungsobjekt betrug 40 cm. Die Dosisleistung betrug 0,01 Gy pro Sekunde. Die Gesamtdosis, welche mit Hilfe eines Victoreen-Dosimeters im Zentrum der Bestrahlungskammer ermittelt wurde, betrug 1,0 Gy.

Für die Bestrahlung wurden jeweils 5 gravide Tiere in einer runden, flachen Plastikbox zusammengesperrt.

3.3. Versuchstiere

Für die Versuche wurden weibliche, virginelle NMRI-Mäuse aus der Versuchstierzucht der GSF in Neuherberg verwendet.

Zur Paarung wurden drei 8 Wochen alte weibliche Tiere mit jeweils einem gleichaltrigen männlichen Tier zwischen 8 und 10 Uhr zusammengesetzt. Die belegten Tiere wurden durch Untersuchung des Vaginalpropfes ermittelt.

Der auf die Paarung folgende Tag gilt als der 1. Tag post conceptionem (p.c) oder 1. Gestationstag.

Während der Gestation und nach der Geburt waren die Tiere zusammen mit dem Wurf in einem Makrolon-Einzelkäfig (27 x 21 x 15 cm) untergebracht.

Nach 4 Wochen wurden die Jungtiere von den Muttertieren abgesetzt und bis zum Ende der Untersuchung im 12. Lebensmonat in Gruppen von jeweils 3 Tieren pro Käfig gehalten.

Die Tierhaltung erfolgte in vollklimatisierten Räumen bei einer Temperatur von 23⁰ C, einer Luftfeuchtigkeit von 85 % und unter künstlicher Beleuchtung von 6 bis 18 Uhr.

3.4. Versuchsablauf

Nach dem positiven Graviditätsbefund wurden die NMRI-Mäuse in folgende Untersuchungsgruppen eingeteilt:

Gruppe 1: Kontrolltiere, 21 gravide Tiere

Gruppe 2: X-Behandlung am 14.Gestationstag, 17 gravide Tiere

Gruppe 3: ENU-Behandlg.am 14.Gestationstag, 26 gravide Tiere

Gruppe 4: X+ENU-Behdlg.am 14.Gestationstag, 21 gravide Tiere

Gruppe 5: ENU+X-Behdlg.am 14.Gestationstag, 18 gravide Tiere

Gruppe 6: X-Behandlung am 15.Gestationstag, 15 gravide Tiere

Gruppe 7: ENU-Behandlg.am 15.Gestationstag, 19 gravide Tiere

Gruppe 8: X+ENU-Behdlg.am 15.Gestationstag, 20 gravide Tiere

Gruppe 9: ENU+X-Behdlg.am 15.Gestationstag, 21 gravide Tiere

Gruppe 10: X-Behandlung am 16.Gestationstag, 17 gravide Tiere

Gruppe 11: ENU-Behandlg.am 16.Gestationstag, 19 gravide Tiere

Gruppe 12: X+ENU-Behdlg.am 16.Gestationstag, 16 gravide Tiere

Gruppe 13: ENU+X-Behdlg.am 16.Gestationstag, 19 gravide Tiere

Die Einzelbehandlungen sowohl mit Röntgenstrahlen (X) als auch mit Ethylnitrosoharnstoff (ENU) erfolgten an nur einem der Gestationstage 14, 15, oder 16 jeweils um 10 Uhr. ENU wurde intraperitoneal verabreicht.

Um 8 Uhr wurde in den entsprechenden Tiergruppen die erste Behandlung für die Untersuchung der Kombinationswirkung von X und ENU durchgeführt. Die ergänzende Behandlung erfolgte jeweils 4 Stunden später um 12 Uhr.

Nach einem normalen Gestationsverlauf wurden die Jungen zum regulären Zeitpunkt um den 19. Gestationstag geboren.

Als Entwicklungsdaten wurden die mittleren Geburtsgewichte und mittleren Körpfergrößen erfaßt und die Anzahl der Totgeburten festgehalten.

Während des anschließenden Beobachtungszeitraumes von 12 Monaten wurde

- a) eine regelmäßige Kontrolle der Gewichtszunahmen durchgeführt und
- b) Tiere, die moribund waren oder spontan starben, in Abhängigkeit von der Zeit unter der Rubrik "kumulative Mortalitätsrate" erfaßt.

Soweit es möglich war und sinnvoll erschien, wurden alle toten Tiere sezziert und pathologisch-anatomisch, gegebenenfalls auch histologisch, untersucht.

Tiere, bei denen dies nicht der Fall war, wurden unter der Bezeichnung "Verlustrate" zusammengefaßt und deren prozentualer Anteil an der Gesamtzahl der Neugeborenen in Tabelle 4 dargestellt.

Im 12. Lebensmonat wurden alle überlebenden Tiere durch Genickbruch getötet und einer pathologisch-anatomischen, sowie einer pathohistologischen Untersuchung, zugeführt. Als Auswertungskriterien wurden folgende Tumordiagnosen herangezogen:

Leukosen, Lungentumoren (Adenome, Adenokarzinome), Lebertumoren (Hepatome), Ovarialtumoren (Adenokarzinome), Uterustumoren (Adenosis uteri) und Hämangiosarkome.

Neben diesen Befunden wurden die restlichen Geschwulst Diagnosen in den einzelnen Untersuchungsgruppen unter der Bezeichnung "sonstige Tumoren" zusammengefaßt.

Während der Befund einer tumorösen Erkrankung in der Regel durch die Ausbildung eines Tumors beschrieben wurde, faßte der Befund Lungentumoren in Abhängigkeit von der Untersuchungsgruppe 1 - 8 umschriebene Lungentumoren zusammen.

Die mittlere Anzahl der Lungentumoren errechnete sich aus der Gesamtzahl der Lungentumoren durch die Anzahl der Lungentumorträger (Tab. 5).

Da in Gruppe 9 und 13 keine experimentellen Daten vorlagen, wurde die mittlere Anzahl der Lungentumoren pro Lungentumorträger a priori auf 4 festgelegt.

3.5. Statistische Auswertung

3.5.1. Nach Erfassung der Tumorbefunde wurden Berechnungen folgender Maßzahlen durchgeführt

- Tumortragende Tiere/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (%) (Tumorträgerinzidenz)
- Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (Tumorzinzidenz)
- Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere
- Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere
- Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere
- Verteilung der tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen
 - a) Gesamtergebnis (%)
 - b) Gesamtergebnis mit geschlechtlicher Differenzierung (%)
 - c) Ergebnis der bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen Tiere (%)
 - d) Ergebnis der im 12. Lebensmonat durchgeführten Sektionen (%)
- Vergleich der Häufigkeiten tumoröser Erkrankungen (%) bei Spontanodesfällen bis zum 12. Lebensmonat mit dem Befund bei der Sektion im 12. Lebensmonat (Bestimmung der Latenzzeit)

3.5.2. Statistische Tests

Statistische Tests wurden bei den Maßzahlen nur durchgeführt, sofern sich alle Zahlenwerte in den Versuchsgruppen aus experimentellen Daten ableiten ließen und eine statistische Absicherung eines Ergebnisses im Rahmen der Gesamtaussage notwendig erschien.

Aus diesem Grunde wurde die nähere Bewertung der Maßzahlen "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere", "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere" und "Anzahl der Lungentumoren/Gesamtzahl der Lungentumortragenden Tiere" durch Signifikanztests unterlassen, da in der Gruppe 9 und 13 hypothetische Annahmen zur mittleren Anzahl der Lungentumoren gemacht wurden.

3.5.2.1.

Um einen signifikanten Unterschied zweier relativer Häufigkeiten wie dem Befund einer tumorösen Erkrankung, der Tumorträgerinzidenz oder der kumulativen Mortalitätsrate bis zum 12. Lebensmonat nach unterschiedlicher Behandlung und/oder nach unterschiedlichen Gestationstagen ermitteln zu können, wurde eine Kontingenztafelanalyse durchgeführt. Der anschließende χ^2 -Test untersuchte die Wahrscheinlichkeit eines signifikanten Unterschieds auf dem 5 %, 1 %, und 0,1 % Niveau.

3.5.2.2.

Signifikante Unterschiede der "Tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" und der "Tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere" zwischen jeweils zwei Untersuchungsgruppen wurden durch den Kruskal-Wallis- und den T-Test bestimmt.

Ersterer bezieht sich auf den unterschiedlichen Median von zwei unabhängigen Stichproben, letzterer auf den unterschiedlichen Mittelwert.

Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % und 1 % festgesetzt.

3.6. Bewertung der Kombinationswirkungen

Eine Bewertung der Kombinationswirkungen von X+ENU oder ENU+X, verglichen mit den jeweiligen Einzelbehandlungen, wurde in Anlehnung an eine Arbeit von Phillips (1977) durchgeführt.

Das Ergebnis der Interaktionen zwischen X und ENU wurde von Phillips (1977), wie im folgenden Beispiel veranschaulicht, beschrieben:

	Gesteigerte Wirkung
$2 + 1 = 4$	-Synergistische Wirkung
$2 + 1 = 3$	-Additive Wirkung
$2 + 1 = 2,5$	-Subadditive Wirkung
$2 + 1 = 1,5$	Interferenz
$2 + 1 = 0,5$	Antagonismus

3.7. Literaturstudie zum Hämangiosarkom

Nachdem die Auswertung der Sektionsbefunde besonders häufig das selten beschriebene Hämangiosarkom zum Ergebnis hatte, wurde eine Literaturstudie durchgeführt, um zusammenfassend andere Beispiele der Induktion von Hämangiosarkomen zu erhalten.

Aus der Vielzahl der Induktionsmöglichkeiten wurden als herausragende Beispiele für die strahleninduzierten Hämangiosarkome diejenigen nach Sr 90 und nach Ce 144-Behandlung zusammengefaßt.

Weiterhin wurden alle durch Nitroso- und Nitrosoharnstoff-Verbindungen induzierbaren Hämangiosarkome zusammengestellt.

Die verwendeten Bestrahlungsdosen bzw. die applizierte Dosis der Nitroso- oder Nitrosoharnstoff-Verbindung wurden der Häufigkeit des Auftretens von Hämangiosarkomen in diesen Studien wie auch in der vorliegenden Untersuchung gegenübergestellt.

Da die Literaturstudie schon 1985 ausgearbeitet wurde, sind die Aktivitätsangaben von Sr 90 und Ce 144 noch in den alten SI-Einheiten (Ci) aufgeführt.

3.8. Abkürzungen

In der Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse sowie in den Tabellen wurden folgende Abkürzungen verwendet:

X	= 1.0 Gy Röntgenstrahlendosis
ENU	= 45 mg 1-Ethyl-1-nitrosoharnstoff / kg KGW.
X 14	= am 14. Gestationstag mit X behandelt
X 15	= am 15. Gestationstag mit X behandelt
X 16	= am 16. Gestationstag mit X behandelt
ENU 14	= am 14. Gestationstag mit ENU behandelt
ENU 15	= am 15. Gestationstag mit ENU behandelt
ENU 16	= am 16. Gestationstag Mit ENU behandelt
Y+ENU 14	= am 14. Gestationstag mit X und 4 Std. später mit ENU behandelt
X+ENU 15	= am 15. Gestationstag mit Y und 4 Std. später mit ENU behandelt
Y+ENU 16	= am 16. Gestationstag mit X und 4 Std. später mit ENU behandelt
ENU+X 14	= am 14. Gestationstag mit ENU und 4 Std. später mit X behandelt
ENU+Y 15	= am 15. Gestationstag mit ENU und 4 Std. später mit X behandelt
ENU+X 16	= am 16. Gestationstag mit ENU und 4 Std. später mit Y behandelt

4. Ergebnisse

4.1. Entwicklungsdaten zum Geburtszeitpunkt

(Tabelle 1)

Die Anzahl der Totgeburten hat in der Kontrollgruppe eine Größenordnung von 1,2 % der Nachkommen. Insignifikant weniger Totgeburten haben die bestrahlten (X) Tiergruppen (X 14 0,5 %, X 15 0 %, X 16 0,5 %).

Die Anzahl der Totgeburten in den übrigen Behandlungsgruppen fällt sehr unterschiedlich aus und ist keinem bestimmten Behandlungsschema zuzuordnen.

(ENU 14 0,3 %, X+ENU 14 0,7 %, ENU+X 14 1,9 %, ENU 15 0,4 %, X+ENU 15 6,2 %, ENU+X 15 1,3 %, ENU 16 2,1 %, X+ENU 16 0 %, ENU+X 16 0,9 %).

Mit 6,2 % Totgeburten wird in der Gruppe X+ENU 15 der höchste Wert erreicht. Ursache dafür ist vor allem die Totgeburt eines ganzen Wurfes (10 Tiere) von einem Muttertier. Diese Totgeburtenrate unterscheidet sich deutlich sowohl von der der Kontrollgruppe als auch von der durchschnittlichen Anzahl der Totgeburten in allen anderen Behandlungsgruppen.

Die mittleren Wurfgrößen sind keinen besonderen Schwankungen unterworfen und liegen alle zwischen 11,2 (ENU 14) und 13,7 (ENU+X 15) Tieren.

Nach der Behandlung am 14. Gestationstag werden nach X (12,8) und X+ENU (13,0) Wurfgrößen erreicht, die größer als die der Kontrollgruppe (12,0) sind. Nach ENU und ENU+X (11,2 bzw. 11,6) werden dagegen geringere Wurfgrößen erreicht.

Umgekehrt verhält es sich dagegen bei den am 15. Gestationstag behandelten Tieren. Nach ENU (12,2) und ENU+X (13,7) ist die mittlere Wurfgröße höher als bei der Kontrollgruppe. Während nach der X-Behandlung (12,7) die mittlere Wurfgröße größer ist als bei der Kontrollgruppe (12,0), ist sie nach der X+ENU-Behandlung mit 11,4 Tieren geringer.

Nach der Behandlung am 16. Gestationstag ist allein die Wurfgröße der mit X behandelten Tiere deutlich reduziert (11,5).

Die Wurfgrößen der anderen Behandlungsgruppen dieses Gestationstages unterscheiden sich kaum von der der Kontrollgruppe (ENU+X 16 11,7, ENU 16 12,3, X+ENU 16 12,3).

Die mittleren Geburtsgewichte der behandelten Tiere liegen alle deutlich unter dem mittleren Geburtsgewicht der Kontrollgruppe (1,61 g).

Obwohl nur geringe Schwankungen der Geburtsgewichte innerhalb der Behandlungsgruppen vorliegen, kann festgestellt werden, daß die Behandlungen mit Y, ENU, X+ENU und ENU+X am 14. Gestationstag zu den geringsten Geburtsgewichten im Vergleich zum 15. und 16. Gestationstag führen.

Während die Tiere nach der ENU-Behandlung am 14., 15. und 16. Gestationstag annähernd gleiche Geburtsgewichte (1,46 g, 1,49 g, 1,46 g) haben, erfolgt nach der Behandlung mit Y, X+ENU und ENU+Y am 14. Gestationstag im Vergleich mit den entsprechenden Behandlungen des 15. bzw. 16. Gestationstages eine kontinuierliche Zunahme des Geburtsgewichtes.

(X 14 1,46 g, X 15 1,48 g, X 16 1,51 g)

(Y+ENU 14 1,37 g, Y+ENU 15 1,40 g, Y+ENU 16 1,47 g)

(ENU+X 14 1,36 g, ENU+X 15 1,43 g, ENU+X 16 1,47 g).

4.2. Postnatale Entwicklung

4.2.1. Mortalitätsrate bis zum 12. Lebensmonat

(Tabelle 2, Abbildung 1, 2, 3)

Die Mortalitätskurve der Kontrolltiere zeigt, daß bei einem Beobachtungszeitraum von 12 Monaten mit einer kumulativen Mortalitätsrate von 19,3 % bereits nach der ersten Lebenswoche 14,1 % der Tiere gestorben sind.

Die Sterblichkeitsraten der am 14. 15. und 16. Gestationstag bestrahlten Tiere liegen während des ganzen Beobachtungszeitraumes unter der der Kontrollgruppe. Mit durchschnittlich 4 % besteht zwischen der Mortalitätskurve der Kontroll- und X 16-Gruppe der größte Unterschied.

Die Mortalität der mit ENU behandelten Tiere ist in den Gruppen ENU 14, 15, 16 anfangs geringer als in der Kontrollgruppe. Bei einem kontinuierlichen Anstieg der Mortalitätskurve wird in der Gruppe ENU 14 und ENU 16 nach 3 Monaten die ku-

kumulative Mortalitätsrate der Kontrolltiere überschritten. In der Gruppe ENU 15 tritt dies erst nach 6 Monaten ein. Nach dem neunten Lebensmonat kommt es in allen drei Behandlungsgruppen zu einem deutlichen Anstieg der Sterberate. In Gruppe ENU 14 von 31,7 auf 51,4 %, in Gruppe ENU 15 von 22,5 auf 51,9 % und in Gruppe ENU 16 von 25,3 auf 55,0 %. Damit wird auch die höchste kumulative Mortalitätsrate in den jeweiligen Behandlungsgruppen der drei Gestationstage erreicht.

Die Mortalitätskurven der am 14. Gestationstag mit der Kombination X+ENU bzw. ENU+X behandelten Tiere verlaufen in den ersten Wochen nach der Geburt ebenfalls unter derjenigen der Kontrollgruppe. Danach aber steigen sie gleichmäßig an und erreichen nach 12 Monaten eine Mortalitätsrate von 39,5 % (X+ENU 14) und 42,4 % (ENU+X 14).

Die Mortalitätsraten von X+ENU 16 und ENU+X 16 haben einen ähnlich gleichmäßigen Anstieg, wie nach den Kombinationsbehandlungen des 14. Gestationstages. Auch bei den am 16. Gestationstag behandelten Tieren führt nach 12 Monaten die Kombination von ENU+X mit 47,1 % gegenüber 44,4 % bei X+ENU zu einer höheren Mortalitätsrate.

In der Gruppe ENU+X 15 liegt schon nach 4 Wochen eine Mortalitätsrate von 25,4 % vor, welche die anderen Versuchsgruppen erst nach 9 Monaten erreichen. Zwischen der 4. Woche und dem Ende des Beobachtungszeitraumes mit einer kumulativen Mortalitätsrate von 42,3 % verläuft die Mortalitätskurve mit einem nur noch geringgradigen Anstieg.

Der Verlauf der Mortalitätskurve von X+ENU 15 beginnt mit der niedrigsten Sterberate dieses Behandlungstages (6,1 %) und endet nach unregelmäßig steigendem Verlauf bei 50,2 %. Damit hat nach der Behandlung am 15. Gestationstag die X+ENU-Kombination und nicht wie am 14. und 16. Gestationstag die umgekehrte ENU+X-Kombination die höchste Mortalitätsrate.

In der Gruppe X+ENU 15 wird mit 50,2 % die höchste Sterblichkeitsrate aller Kombinationsgruppen der Gestationstage 14, 15 und 16 erreicht.

4.2.2. Kumulative Mortalitätsrate nach 12 Lebensmonaten

(Tabelle 2, Abbildung 4)

Nach 12 Lebensmonaten hat die kumulative Mortalitätsrate der Gruppe ENU 14 mit 51,4 % zur nächstliegenden Mortalitätsrate der Gruppe ENU+X 14 mit 42,4 % noch keinen, zur Mortalitätsrate der Gruppe Y+ENU 14 mit 39,5 % aber einen signifikanten ($p \leq 0,05$) Unterschied.

Der Unterschied der Mortalitätsraten zwischen ENU 14 und X 14 (19,4 %) bzw. der Kontrollgruppe (19,3 %) ist hoch signifikant ($p \leq 0,001$).

Dasselbe gilt für die kumulativen Mortalitätsraten von X 14 und ENU+X 14 (42,4 %) ($p \leq 0,001$) bzw. Y+ENU 14 (39,5 %) ($p \leq 0,001$).

Die kumulativen Mortalitätsraten der Kontrollgruppe (19,3 %) und X 14 (19,4 %) sind nahezu gleich.

In den am 15. Gestationstag behandelten Tiergruppen unterscheiden sich ENU 15 (51,9 %), Y+ENU 15 (50,2 %) und ENU+X 15 (42,3 %) in ihren kumulativen Mortalitätsraten signifikant ($p \leq 0,001$) von der Kontrollgruppe (19,3 %) und X 15 (17,8 %).

Ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und X 15 ist dagegen nicht vorhanden.

Auf dem 5 % Niveau unterscheidet sich ENU 15 (51,9 %) deutlich von ENU+X 15 (42,3 %), nicht aber von Y+ENU 15 (50,2 %). Zwischen X+ENU 15 und ENU+X 15 besteht kein signifikanter, sondern nur ein zahlenmäßiger Unterschied von 7,9 %.

Wie am 15. Gestationstag besteht auch nach der Behandlung am 16. Gestationstag zwischen den kumulativen Mortalitätsraten von ENU 16 (55,0 %), ENU+X 16 (47,1 %) und X+ENU 16 (44,4 %) auf der einen und der Kontrollgruppe (19,3 %) und X 16 (12,9 %) auf der anderen Seite hochsignifikante ($p \leq 0,001$) Unterschiede.

Die Differenz von 6,4 % zwischen der Kontrollgruppe und X 16 ist nicht signifikant.

Die kumulativen Mortalitätsraten der Gruppen ENU 16, ENU+X 16 und X+ENU 16 können in derselben Weise gegeneinander abgegrenzt werden wie die Behandlungsgruppen des 14. Gestationstages.

ENU 16 (55,0 %) unterscheidet sich zwar signifikant von X+ENU 16 (44,4 %) ($p \leq 0,05$), aber nicht mehr von ENU+X 16 (47,1 %). Zwischen den Kombinationsbehandlungen Y+ENU 16 und ENU+X 16 besteht nur ein zahlenmäßiger Unterschied.

4.2.3. Gewichtszunahme bis zum 12. Lebensmonat

(Tabelle 3, Abbildung 5, 6, 7)

Die Gewichtszunahme der Behandlungsgruppen aller drei Gestationstage haben bis zum 3. Lebensmonat denselben Anstieg wie die Gewichtskurve der Kontrollgruppe.

In der Kontrollgruppe kommt es anschließend mit fortschreitendem Alter zu einer immer geringeren Gewichtszunahme. Nach 12 Monaten wird mit durchschnittlich 45,2 g das Höchstgewicht aller Untersuchungsgruppen erreicht.

Einen ähnlichen Verlauf haben die Gewichtskurven der Gruppen X 14, X 15, X 16. Innerhalb der Behandlungsgruppen der Gestationstage 14, 15, 16 haben sie die größten Gewichtszunahmen und erreichen jeweils am Ende der Meßzeit ihr Höchstgewicht.

Die Gewichtskurven der Gruppen ENU, Y+ENU und ENU+X verlaufen dagegen mit einem geringeren Anstieg, erreichen schon um den 6. Lebensmonat ihren Scheitelpunkt, das Höchstgewicht, und fallen anschließend bis zum Ende der Meßzeit im 12. Lebensmonat unterschiedlich stark ab.

Bei einer gezielteren Untersuchung fällt auf, daß es bei den bestrahlten Tieren und nach der Behandlung am 14. Gestationstag zur größten Reduktion der Gewichtszunahme kommt. Nach 12 Lebensmonaten beträgt in der Gruppe X 14 das mittlere Tiergewicht 39,3 g, während in Gruppe X 15 40,1 g und in Gruppe X 16 sogar 42,9 g gemessen werden.

Die Behandlung mit ENU führt bis zum 6. Monat in allen 3 Tiergruppen zu annähernd gleichen Tiergewichten (ENU 14 36,3 g, ENU 15 36,5 g, ENU 16 37,2 g). Anschließend kommt es bis zum 12. Lebensmonat in den einzelnen ENU-Gruppen zu einem unterschiedlichen Gewichtsabfall. Mit 31,9 g wird in der Gruppe ENU 16 schließlich das geringste mittlere Tiergewicht gemessen. In der Gruppe ENU 15 und ENU 14 wird ein Tiergewicht von 32,6 g bzw. 34,9 g erreicht.

Die Untersuchung der Kombinationsbehandlungen zeigt, daß Y+ENU an allen drei Gestationstagen zu einer geringeren Gewichtszunahme, 32,8 g, 31,1 g bzw. 33,7 g als die umgekehrte ENU+X Kombination führt. Nach X+ENU 14 und 15 wird zudem am Ende der Meßzeit das niedrigste mittlere Tiergewicht aller Behandlungsgruppen dieser beiden Gestationstage erreicht.

Die Gewichtszunahme der umgekehrten Kombination ENU+X vom 14. und 16. Gestationstag hat einen nahezu parallelen Verlauf zu der der X+ENU Behandlung. Nach 12 Monaten wird nach ENU+X 14 (33,7 g) ein um 0,9 g, nach ENU+X 16 (35,0 g) ein um 1,3 g höheres Tiergewicht als nach der entsprechenden X+ENU-Behandlung gemessen. Die Behandlung mit Y+ENU am 15. Gestationstag führt mit 31,1 g zum niedrigsten Tiergewicht aller Versuchsgruppen. Die umgekehrte Kombination ENU+X 15 (35,6 g) führt dagegen zum höchsten Tiergewicht aller mit ENU allein oder in Kombination behandelten Tiere.

Bei Vergleich der ENU-Behandlung mit den Kombinationsbehandlungen kann folgendes festgestellt werden:

Nach der Behandlung am 14. Gestationstag führen die beiden Kombinationen zu einer größeren Reduktion des Tiergewichtes als die ENU Behandlung. Nach der Behandlung am 16. Gestationstag wird in der Gruppe ENU das Tiergewicht am meisten reduziert. Die Behandlung am 15. Gestationstag ergibt nach X+ENU im 12. Lebensmonat ein mittleres Tiergewicht, das kleiner, nach ENU+X ein mittleres Tiergewicht, das größer ist als nach der ENU Behandlung.

4.3. Übersicht über die Anzahl der untersuchten Tiere (Tabelle 4)

Die Tabelle 4 stellt die pathologisch nicht untersuchten Tiere (Verlustrate) den pathologisch untersuchten Tieren gegenüber.

In der Spalte "Verlustrate" weicht allein die Gruppe ENU+X 15 (25 %) deutlich von den anderen Behandlungsgruppen (10,0 % - 16,7 %) ab.

Ein Grund für diese um 10,3 % vom Durchschnittswert 14,7 % (inklusive Kontrolltiere) abweichende Anzahl von Tieren, die bis zum 12. Lebensmonat nicht pathologisch untersucht wurden, kann nicht gegeben werden.

Die Spalte der pathologisch untersuchten Tiere ist in die Gruppen "insgesamt-", "bis zum 12. Lebensmonat-" und "im 12. Lebensmonat-" sezierte Tiere eingeteilt.

Es fällt auf, daß die Anzahl der bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen und pathologisch untersuchten Tiere sehr unterschiedlich ausfällt.

Die mit X behandelten Gruppen haben die niedrigste Anzahl (X 14 6 %, X 15 4 %, X 16 2 %), die mit ENJ behandelten Gruppen haben die höchste Anzahl (ENU 14 44 %, ENU 15 47 %, ENU 16 47 %) pathologisch untersuchter Tiere.

Beide Kombinationsbehandlungen des 14. Gestationstages führen 31 % bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen und untersuchter Tiere. Am 16. Gestationstag führt X+ENU zu 35 % und ENU+X zu 34 %. Nach den Kombinationsbehandlungen des 15. Gestationstages werden 44 % (X+ENU) bzw. 29 % (ENU+X) pathologisch untersucht.

In der Gruppe ENU+X 15 werden, bedingt durch die hohe Verlustrate, an vor allem in der ersten Lebenswoche gestorbenen und nicht untersuchten Tieren (25 %) nur 29 % der insgesamt untersuchten Tiere bis zum 12. Monat pathologisch ausgewertet. 29 % nach ENU+X 15 liegt aber immer noch im Bereich der untersuchten Tierzahl von 31 % nach ENU+X 14 bzw. 34 % nach ENU+X 16. Dies bedeutet, daß die hohe Verlustrate der Untersuchungsgruppe ENU+X 15 nicht bei der Interpretation der Sektionsergebnisse berücksichtigt werden muß.

In der letzten Spalte der Tabelle 4 ist schließlich die Anzahl der 12 Monate überlebenden und danach pathologisch untersuchten Tiere zusammengefaßt.

Die geschlechtliche Differenzierung der pathologisch untersuchten Tiere ergibt mit Ausnahme der in Gruppe X 14 bis zum 12. Monat untersuchten Tiere keine bemerkenswerten Verteilungen. In Gruppe X 14 tritt ein Verhältnis von 11 männlichen zu 0 weiblichen pathologisch untersuchten Tieren auf, was aber wegen der geringen Gesamtzahl von Tieren ohne größere Bedeutung ist.

4.4. Sektionsergebnisse

4.4.1. Tumorfrequenzen in den einzelnen Versuchsgruppen (Tabelle 5)

4.4.1.1. Tumortragende Tiere/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (Abbildung 8)

Betrachtet man die Tumortragereinzenzen in den bestrahlten Tiergruppen, so fällt auf, daß X zwar nicht zu signifikanten, aber doch zu zahlenmäßig niedrigeren Prozentzahlen (23,1 %, 27,4 %, 22,7 %) als die Kontrollgruppe (28,0 %) führt.

Verglichen mit dem Ergebnis der Kontroll- und X-Gruppe hat die mit ENU behandelte Tiergruppe an jedem Gestationstag eine signifikant ($p \leq 0,001$) höhere Tumortragereinzenz. Derselbe signifikante Unterschied liegt zwischen den Tumortragereinzenzen der Kontroll- und X-Gruppe und den Tumortragereinzenzen der Kombinationsgruppen vor.

Die mit X+ENU behandelten Gruppen haben an allen 3 Gestationstagen die höchste Tumortragereinzenz (73,5 %, 61,2 %, 67,7 %). Die Ergebnisse von X+ENU 14 und X+ENU 16 unterscheiden sich dabei signifikant ($p \leq 0,05$) von den jeweiligen Ergebnissen der ENU-Behandlung.

Die Behandlung mit ENU+X fällt an den einzelnen Gestations-
tagen differenzierter aus:

Während sich ENU+X 14 und X+ENU 14 mit 70,9 % bzw. 73,5 % nur
wenig in ihrem Ergebnis unterscheiden, fällt der Unterschied
dieser beiden Kombinationen nach der Behandlung am 15. Gesta-
tionstag größer aus (61,2 % zu 54,5 %). Aber erst die Kombi-
nationsbehandlungen am 16. Gestationsstag (67,7 % zu 51,1 %)
führen zu einem signifikanten ($p \leq 0,01$) Unterschied der Tumor-
trägerinzidenzen.

Der Einfluß des Gestationstages zeigt bei der Bestrahlung
keine Wirkung. X 15 führt zwar mit 27,4 % zum höchsten Ergeb-
nis, dieses unterscheidet sich aber nicht signifikant von
den Ergebnissen der anderen Gestationstage.

Innerhalb der mit ENU behandelten Tiere ist der Unterschied
der Tumorträgerinzidenzen von ENU 14 zu ENU 16 signifikant
($p \leq 0,05$).

Die Kombination X+ENU 14 (73,5 %) hat eine signifikant ($p \leq$
0,05) höhere Tumorträgerinzidenz als die Behandlung X+ENU 15
(61,2 %) und X+ENU 16 (67,7 %). Die Kombinationen X+ENU vom
15. und 16. Gestationstag unterscheiden sich nur zahlenmäßig
voneinander.

Dasselbe gilt für die umgekehrte Kombination. Nur ist der
Unterschied zwischen ENU+X 14 (70,9 %) und ENU+X 15 (54,5 %)
bzw. ENU+X 16 (51,1 %) auch auf dem 0,1 % Niveau signifikant.

4.4.1.2. Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere.

(Keine Statistik gemacht, siehe Material und
Methode)

(Abbildung 9)

Die Tumorzinzidenz wird durch die X-Behandlung deutlich vermin-
dert. Die Anzahl der Tumoren, auf die Gesamtzahl der unter-
suchten Tiere bezogen, beträgt 0,24 (X 14), 0,27 (X 15) und
0,28 (X 16) im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 0,40.

Die Behandlungen mit ENU führen an den verschiedenen Gestationstagen zu einer sehr viel größeren Tumorzahl als in der Kontroll- und der entsprechenden X-Gruppe. Vom 14. zum 16. Gestationstag hin nimmt die Tumorzinzenz (5,0, 4,7, 4,4) nach der ENU-Behandlung ab.

Die Kombination X+ENU führt zum umgekehrten Ergebnis. Nach X+ENU 16 beträgt die mittlere Anzahl an Tumoren 5,7, nach X+ENU 15 bzw. 14 dagegen nur noch durchschnittlich 4,4 bzw. 3,0.

Vergleicht man die ENU und X+ENU-Behandlung innerhalb der jeweiligen Gestationstage, so fällt auf, daß die X+ENU-Behandlung am 14. Gestationstag nur zu durchschnittlich 3 Tumoren/Tier, die ENU-Behandlung dagegen zu 5 Tumoren/Tier führt. Während die Tumorzinzenzen nach der Behandlung am 15. Gestationstag annähernd gleich ausfallen (ENU 15 4,7; X+ENU 15 4,4), ist die Tumorzinzenz nach X+ENU 16 größer (5,7) als nach ENU 16 (4,4).

Die umgekehrte Kombination ENU+X vom 14. Gestationstag führt zu 3,1 Tumoren pro Tier. Nach der Behandlung am 15. und 16. Gestationstag kommt es dagegen unter der Annahme, daß vier Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier auftreten, zu einer deutlichen Reduktion der Tumorzinzenz auf 2,3 (ENU+X 15) bzw. 2,2 (ENU+X 16).

4.4.1.3. Tumöröse Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (Abbildung 10)

Bei der Kontrollgruppe liegt das Ergebnis von 0,36 tumorösen Erkrankungen bezogen auf die Gesamtzahl der untersuchten Tiere über den Ergebnissen der bestrahlten Tiere. Mit dem T-Test kann zwischen dem der Kontrollgruppe (0,36) und X 14 (0,24) auf dem 5 % Niveau ein signifikanter ($p \leq 0,05$) Unterschied festgestellt werden.

Innerhalb der X-Behandlungsgruppe (X 14 0,24, X 15 0,27, X 16 0,28) bestehen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der tumorösen Erwartungen.

Die mit ENU behandelte Tiergruppe unterscheidet sich in der Anzahl der tumorösen Erkrankungen hochsignifikant ($p \leq 0,001$) von den bestrahlten Tieren. Die Inzidenz der tumorösen Erkrankungen fällt vom Ergebnis der ENU 14-Behandlung zum Ergebnis der ENU 16-Behandlung kaskadenförmig ab (ENU 14 0,92, ENU 15 0,82, ENU 16 0,76).

Die Anzahl der tumorösen Erkrankungen innerhalb dieser Behandlungsgruppe unterscheidet sich nicht signifikant.

Die tumorösen Erkrankungen nach den Kombinationsbehandlungen am 14. und 15. Gestationstag führen zu einem annähernd gleichen Ergebnis wie die Einzelbehandlungen mit ENU (ENU 14 0,92, X+ENU 14 0,97, ENU+X 14 0,95 bzw. ENU 15 0,82, X+ENU 15 0,83, ENU+X 15 0,79).

Während innerhalb dieser Behandlungsgruppen des 14. und 15. Gestationstages die Abweichungen zu gering sind, um zu einem signifikanten Unterschied zu führen, treten zwischen den Ergebnissen des 14. und 15. Gestationstages signifikante Unterschiede auf. Der Unterschied der tumorösen Erkrankungen nach X+ENU und ENU+X vom 14. bzw. 15. Gestationstag ist jeweils auf dem 5%-Niveau signifikant.

Im Gegensatz zu den Kombinationsbehandlungen des 14. und 15. Gestationstages kommt es innerhalb der Ergebnisse nach den Kombinationsbehandlungen des 16. Gestationstages zu einem signifikanten ($p \leq 0,001$) Unterschied. Nach X+ENU 16 wird die höchste Anzahl (1,04) aller Versuchsgruppen, nach ENU+X 16 die niedrigste Anzahl (0,70) aller Kombinationsbehandlungen an tumorösen Erkrankungen erreicht. Während die Ergebnisse von X+ENU 16 und ENU+X 16 auf dem 0,1%-Niveau signifikant sind, unterscheiden sich die Ergebnisse von ENU 16 und X+ENU 16 auf dem 1%-Niveau.

Dem signifikanten Unterschied zwischen ENU 16 und X+ENU 16 liegen 0,76 zu 0,70 tumoröse Erkrankungen pro Gesamtzahl der untersuchten Tiere zugrunde.

4.4.1.4. Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere

(keine Statistik, siehe Material und Methode)
(Abbildung 11)

Auch bei dieser Maßzahl wird von der unter 4.4.1.2. besprochenen "Anzahl der Tumoren" ausgegangen. In diesem Fall wird sie aber nicht auf die Gesamtzahl der untersuchten, sondern auf die Gesamtzahl der tumortragenden Tiere bezogen.

Wiederum ist die Anzahl der Tumoren in der X-Gruppe (1,02, 1,00, 1,26) im Vergleich zur Kontrollgruppe (1,46) erniedrigt, die Anzahl der Tumoren der ENU-Gruppe (7,75, 8,05, 7,73) dagegen deutlich erhöht.

Innerhalb der ENU-Gruppen wird nach ENU 15 die höchste Tumorzahl (8,05) bezogen auf die Gesamtzahl der tumortragenden Tiere erreicht.

Vergleicht man die beiden Maßzahlen nach der Behandlung mit X+ENU, so liegen annähernd gleiche Ergebnisse vor. Wiederum ergibt X+ENU 16 die größte Anzahl an Tumoren (8,40) verglichen mit allen anderen Versuchsgruppen, X+ENU 14 nicht nur die niedrigste Anzahl der Tumoren (4,13) dieser X+ENU-Kombination, sondern auch aller umgekehrten ENU+X-Kombinationsbehandlungen. Auch bei dieser Maßzahl liegt das Ergebnis von X+ENU 15 (7,20) zwischen dem des 14. und 16. Gestations-tages.

Vergleicht man nach der ENU+X-Behandlung das Ergebnis dieser Maßzahl mit dem Ergebnis der Maßzahl "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere", so liegen auch hier Parallelen vor.

Die Anzahl der Tumoren in Gruppe ENU+X 14 (4,34) ist im Vergleich zu X+ENU 14 (4,13) leicht erhöht. Die ENU+X-Kombinationsbehandlungen des 15. (4,22) und 16. (4,36) Gestations-tages liegen bei einer Annahme von 4 Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier mit ihren Tumorinzidenzen deutlich unter denen von X+ENU 15 (7,20) und X+ENU 16 (8,40).

Nach ENU+X 15 (4,22) wird bei dieser Maßzahl die niedrigste Anzahl an Tumoren im Vergleich mit den Ergebnissen der anderen ENU-Einzel- und -Kombinationsbehandlungen erreicht.

4.4.1.5. Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere (Abbildung 12)

Im Gegensatz zur Maßzahl von 4.4.1.3. sind bei dieser Maßzahl die tumorösen Erkrankungen auf die Gesamtzahl der tumortragenden Tiere bezogen.

X 14 (1,02) und X 15 (1,00) haben deutlich weniger ($p \leq 0,01$) tumoröse Erkrankungen als X 16 (1,26) und die Kontrollgruppe (1,27).

ENU führt am 14. und 15. Gestationstag zu einer signifikant höheren Anzahl an tumorösen Erkrankungen (1,43 bzw. 1,41) als nach der Bestrahlung. Die Ergebnisse nach X 16 (1,26) und ENU 16 (1,33) haben dagegen keinen signifikanten Unterschied.

Die Kombinationen X+ENU des 14. und 15. Gestationstages bewirken nur eine unwesentliche Veränderung gegenüber den entsprechenden ENU-Einzelbehandlungen in der Anzahl der tumorösen Erkrankungen (1,32 bzw. 1,36). Die Kombination X+ENU 16 (1,53) unterscheidet sich dagegen signifikant ($p \leq 0,05$) von ENU 16 in der Anzahl der tumorösen Erkrankungen. Auch die Differenz der Anzahl der tumorösen Erkrankungen nach X+ENU 16 und nach X+ENU 14 bzw. 15 ist signifikant ($p \leq 0,05$).

Die umgekehrte Sequenz ENU+X führt zwar an den einzelnen Gestationstagen zu zahlenmäßigen Veränderungen der tumorösen Erkrankungen (ENU+X 14 1,34, ENU+X 15 1,46, ENU+X 16 1,38), eine signifikante Bedeutung liegt aber diesem nicht zugrunde. Bei Vergleich mit der X+ENU-Kombination ist nur der Anstieg an tumorösen Erkrankungen in der Gruppe ENU+X 15 auf 1,46 und der Abfall in der Gruppe ENU+X 16 auf 1,38 bemerkenswert.

4.4.1.6. Anzahl der Lungentumoren/Lungentumor-tragendes Tier

(keine Statistik, siehe Material und Methode)
(Abbildung 13)

Nach der X-Behandlung fällt, wie in der Kontrollgruppe, jeweils ein Lungentumor pro Lungentumorträger an.

Die ENU-Behandlung führt an den einzelnen Gestationstagen zu einer größeren, aber innerhalb der Gruppe wiederum annähernd gleichen Lungentumorzahl pro Lungentumorträger (ENU 14 7,3, ENU 15 7,6, ENU 16 7,4).

Die Anzahl der Lungentumoren nach der X+ENU-Kombination fällt dagegen an den einzelnen Gestationstagen sehr unterschiedlich aus. Während nach X+ENU 14 jedes Lungentumor-tragende Tier im Durchschnitt nur 3,8 Lungentumoren hat, wird nach X+ENU 15 mit 6,8 Lungentumoren ein annähernd gleiches Ergebnis wie nach der ENU 15-Behandlung (7,6) erreicht. Nach der X+ENU-Behandlung am 16. Gestationstag wird mit 7,9 Lungentumoren sogar das Ergebnis nach ENU 16 (7,4) übertroffen.

In der Gruppe ENU+X werden für den 14. Gestationstag 4,0 Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier ermittelt. Da für die ENU+X-Kombination des 15. und 16. Gestationstages nur sehr wenige experimentelle Daten vorlagen, wurden unter Berücksichtigung der übrigen Versuchsergebnisse ebenfalls 4 Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier festgelegt. Mit Ausnahme von ENU+X 14 (4,0) liegen damit die Lungentumoren pro Lungentumorträger nach der ENU+X-Behandlung deutlich niedriger als nach der X+ENU-Behandlung.

4.4.2. Verteilung der tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

(Tabelle 6 a)

4.4.2.1. Leukosen

(Abbildung 14)

Die Behandlung mit X führt zu einer deutlichen Reduktion ($p \leq 0,001$) der Leukosen (X 14 0 %, X 15 0,6 %, X 16 1,7 %) gegenüber der Kontrollgruppe (11,8 %).

Die mit ENU behandelten Tiergruppen des 14. (6,4 %) und 15. Gestationstages (3,8 %) haben eine hochsignifikante ($p \leq 0,001$) bzw. signifikant ($p \leq 0,05$) größere Tumorausbeute als die jeweils mit X behandelten Tiergruppen. Gegenüber der Kontrollgruppe ist sie jedoch in allen 3 Fällen immer noch deutlich erniedrigt ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,01$). ENU 14 erreicht mit 6,4 % zwar die höchste Leukoseinzidenz der ENU-Gruppe, diese liegt damit aber immer noch um fast die Hälfte niedriger als die der Kontrollgruppe (11,8 %).

Die Kombination X+ENU führt an allen 3 Gestationstagen zu annähernd gleichen Ergebnissen (X+ENU 14 2,9 %, X+ENU 15 2,7 %, X+ENU 16 2,4 %). Mit diesen Kombinationsergebnissen werden zudem die niedrigsten Leukoseinzidenzen aller Einzel- und Kombinationsbehandlungen mit ENU an den jeweiligen Gestationstagen erreicht.

Die umgekehrte ENU+X-Kombination des 16. Gestationstages führt zu einer größeren Tumorausbeute (5,4 %) als die des 14. (4,1 %) und 15. (2,8 %) Gestationstages.

Die Unterschiede der Ergebnisse von ENU zu denen von X+ENU und ENU+X sind nicht signifikant.

4.4.2.2. Lungentumoren

(Abbildung 14)

In der Kontrollgruppe findet sich die geringste Anzahl an Tieren mit Lungentumoren (5,2 %).

Nach der X-Behandlung am 14. Gestationstag beträgt die Zahl der Lungentumorträger 8,6 %. Nach der Behandlung am 15. und 16. Gestationstag treten sie mit der signifikant ($p \leq 0,05$) höheren Inzidenz von 12,2 % bzw 11,0 % auf.

ENU führt in allen 3 Gruppen zu einem hochsignifikanten ($p \leq 0,001$) Anstieg von Tieren mit Lungentumoren auf 62,4 % (ENU 14), 57,7 % (ENU 15) und 56,6 % (ENU 16).

Nach der Kombination X+ENU wird an den jeweiligen Gestationstagen die höchste Lungentumorinzidenz aller Behandlungsgruppen erreicht (X+ENU 14 71,0 %, X+ENU 15 59,6 %, X+ENU 16 65,3 %). Der Unterschied zum Ergebnis der entsprechenden ENU-Einzelbehandlungen ist aber nicht signifikant.

Bei der umgekehrten ENU+X-Kombination fällt wiederum nach der Behandlung am 14. Gestationstag das höchste Ergebnis an. Mit 70,3 % unterscheidet es sich aber nur unwesentlich vom Ergebnis der X+ENU-Behandlung (71,0 %).

Das Ergebnis von ENU+X 15 (52,6 %) unterscheidet sich deutlicher vom Ergebnis der X+ENU 15-Kombination (59,6 %).

Erst nach der Behandlung am 16. Gestationstag besteht zwischen den Lungentumorinzidenzen der beiden Kombinationen auf dem 5%-Niveau ein signifikanter Unterschied (ENU+X 16 53,3 %).

4.4.2.3. Lebertumoren

(Abbildung 16)

Bei der Auswertung dieser Tumoren fällt auf, daß sowohl in der Kontrollgruppe als auch nach der X-Behandlung am 15. und 16. Gestationstag bei keinem Tier ein Hepatom diagnostiziert werden kann. Einzig X 14 führt zu einer Inzidenz von 1,1 %.

Nach der ENU-Behandlung kommt es dagegen zu einem vergleichsweise häufigen Auftreten dieses Tumors (ENU 14 10,8 %, ENU 15

5,8 %, ENU 16 4,6 %). Der Unterschied zur Kontroll- bzw. X-Gruppe des 15. und 16. Gestationstages ist auf dem 1%-, der zu X 14 auf dem 0,1%-Niveau signifikant. Die Lebertumormrate nach ENU 14 unterscheidet sich auch innerhalb der mit ENU-behandelten Gruppen signifikant ($p \leq 0,05$) von deren Ergebnissen.

Die Kombination X+ENU des 14. Gestationstages führt zu einem annähernd gleichen Zahlenwert (10,1 %) wie nach ENU 14. Bei Vergleich mit der entsprechenden ENU-Gruppe kommt es nach X+ENU 15 zu einer Zunahme der Lebertumorträger auf 9,6 %. Nach X+ENU am 16. Gestationstag treten mit 13,2 % signifikant ($p \leq 0,01$) mehr Lebertumorträger auf als nach ENU 16. Mit 13,2 % nach X+ENU 16 wird die höchste Lebertumormrate aller Versuchsgruppen erreicht.

Die umgekehrte ENU+X-Behandlung des 14. Gestationstages führt zu einer annähernd gleichen Inzidenz (10,5 %) wie die X+ENU 14 (10,1 %). Nach ENU+X 15 steigt die Zahl der Tumorträger vergleichsweise zu X+ENU 15 etwas an (11,7 %). Dagegen nimmt nach ENU+X 16 die Zahl der Lebertumorträger auf 4,9 % ab, und erreicht damit ungefähr die Tumorzinzenz von ENU 16 (4,6 %).

Der Unterschied der Lebertumorzinzenz von X, ENU, ENU+X und X+ENU des 16. Gestationstages ist signifikant ($p \leq 0,01$). Innerhalb der ENU+X-Behandlungsgruppe besteht auch zwischen den Lebertumorzinzenzen von ENU+X 14 bzw. ENU+X 16 ein deutlicher Unterschied ($p \leq 0,05$).

4.4.2.4. Ovarumoren

(Abbildung 17)

Die Abbildung 17 gibt die Anzahl der Ovarumorträger bezogen auf alle weiblichen Tiere in den jeweiligen Versuchsgruppen wieder.

Mit 9,9 % bzw. 9,8 % fällt das Ergebnis nach X 15 bzw. X 16 fast gleich wie in der Kontrollgruppe (9,7 %) aus. Nach der X-Behandlung am 14. Gestationstag beträgt die Ovartumorzinidenz nur 7,6 %.

Nur die ENU-Behandlung des 15. Gestationstages (20,0%) führt zu einer signifikanten ($p \leq 0,05$) Zunahme der Tumorzinidenz gegenüber der Kontrollgruppe und der entsprechenden X-Behandlung. Nach ENU 14 treten bei 9,9 % der Tiere Ovartumoren auf. Nach der ENU-Behandlung am 16. Gestationstag tritt eine niedrigere Tumorzinidenz (6,6 %) als nach X 16 auf.

Die Kombination X+ENU des 16. Gestationstages (14,5 %) führt gegenüber der ENU-Einzelbehandlung zu einer Zunahme an Ovarumorträgern. Die Tumorzinidenz von 14,5 % ist gleichzeitig die größte Ovarumortrate aller Behandlungen des 16. Gestationstages. Die X+ENU 14 Behandlung bewirkt gegenüber der ENU-Einzelbehandlung kaum eine Veränderung im Ergebnis (9,6 %). Nach X+ENU 15 treten bei 14 % der Tiere Ovartumoren auf. Der Unterschied zum Ergebnis von ENU 15 ist nicht signifikant.

Nach ENU+X 14 (10,4 %) tritt wiederum ein annähernd gleiches Ergebnis wie in der Kontrollgruppe auf. ENU+X 15 führt mit 10 % zu einer etwas niedrigeren Tumorzinidenz. Die Zahl der Ovarumorträger der ENU+X-Behandlung am 16. Gestationstag (5,3 %) unterscheidet sich dagegen deutlich ($p \leq 0,05$) von der entsprechenden X+ENU-Kombination. Damit wird ein ähnliches Ergebnis wie nach ENU 16 erreicht.

4.4.2.5. Uterustumoren

(Abbildung 18)

Die Auswertung dieses Tumors bezieht sich ebenfalls auf die Gesamtzahl aller weiblichen Tiere in den Versuchsgruppen.

Die Kontrollgruppe und X 14 haben die höchste Uterustumorinzidenz (19,4 % bzw. 19,6 %). Nach X 15 und X 16 treten bei 17,3 % bzw. 16,7 % der weiblichen Tiere Uterustumoren auf.

Die ENU-Behandlung führt an allen Gestationstagen zu einer deutlichen Reduktion der Uterustumorinzidenz. Die Anzahl der Uterustumorträger nach der ENU-Behandlung am 14. (6,3 %) und 15. Gestationstag (7,1 %) unterscheidet sich signifikant ($p \leq 0,05$) sowohl von der jeweiligen X-Behandlung als auch von der Kontrollgruppe. Nach der ENU-Behandlung am 16. Gestationstag kommt es mit 7,7 % an Uterustumorträgern zu einer Inzidenz, die zwar sehr viel geringer ist als nach X 16, aber noch keinen signifikanten Unterschied bedeutet.

Verglichen mit der X- und ENU-Behandlung führt die X+ENU-Kombination des 15. und 16. Gestationstages zu einer weiteren Reduktion der Uterustumorinzidenz auf 5,2 % bzw. 2,0 %. Nach X+ENU am 16. Gestationstag fällt dagegen die Tumorzidenz (13 %) höher aus, als nach der entsprechenden ENU-Behandlung.

Nach der umgekehrten ENU+X-Behandlung am 14. und 15. Gestationstag kommt es zu einem ähnlichen Ergebnis (3,9 % bzw. 5,0 %) wie nach X+ENU 14 bzw. 15. Die ENU+X-Behandlung am 16. Gestationstag muß wiederum gesondert betrachtet werden. Nach ENU+X 16 tritt mit 3,6 % die niedrigste Uterustumorinzidenz aller Behandlungen dieses Gestationstages auf. Dieses Ergebnis unterscheidet sich hochsignifikant ($p \leq 0,001$) von dem der umgekehrten X+ENU-Kombination.

4.4.2.6. Hämangiosarkome

(Abbildung 19)

Dieser Tumor tritt weder in der Kontrollgruppe auf, noch hat er in der mit X-behandelten Tiergruppe eine bedeutende Inzidenz (X 14 0,5 %, X 15 0,6 %, X 16 0 %).

In den mit ENU behandelten Gruppen kommt es vermehrt zu Hämangiosarkominzidenzen (ENU 14 2 %, ENU 15 2,4 %, ENU 16 2,6 %). Aber nur die ENU 16-Behandlung führt zu einem signifikant ($p \leq 0,05$) häufigeren Auftreten dieses Tumors als nach der entsprechenden X-Behandlung.

Nach der X+ENU-Behandlung am 14. und 16. Gestationstag kommt es zu einer weiteren Zunahme der Hämangiosarkominzidenz (2,9 % bzw. 3,0 %). X+ENU 16 führt mit 3 % zu den meisten Hämangiosarkomträgern aller Versuchsgruppen. Am 15. Gestationstag ist nach X+ENU das Auftreten dieses Tumors weniger häufig (2,1 %) als nach der ENU-Einzel-Behandlung.

Während die Auswertung des Hämangiosarkoms nach der X+ENU 14- und 16-Behandlung zu höheren Ergebnissen führt, sind diese nach den umgekehrten ENU+X-Kombinationen niedriger (ENU+X 14 7 %, ENU+X 16 1,1 %) als nach den jeweiligen ENU-Einzelbehandlungen. Die Unterschiede sind aber nicht signifikant. Umgekehrt verhält es sich nach der ENU+X-Kombination des 15. Gestationstages. Mit 2,3 % wird diesmal das höchste Ergebnis aller ENU+X-Kombinationsbehandlungen erreicht.

4.4.2.7. Sonstige Tumoren

Unter dieser Rubrik sind alle diejenigen Tumoren zusammengefaßt, die vereinzelt in den Versuchsgruppen auftraten, und daher nicht näher ausgewertet wurden.

Im Anhang der Tabelle 8 sind sie im einzelnen aufgeführt.

Es sind dies Nierentumoren, Thymustumoren, Hodentumoren, Darmtumoren, Hauttumoren, Augentumoren, Gekrösetumoren und Lymphknotentumoren.

Wegen der niedrigen Inzidenz dieser Tumoren konnte keine Statistik gemacht werden.

In der Kontrollgruppe treten 3,8 % an "sonstigen Tumoren" auf.

Diese Tumorzinzidenz wird nur noch von ENU 16 mit 5,4 % und X+ENU 14 mit 5,5 % an "sonstigen Tumoren" übertroffen.

Nach der X-Behandlung des 14. und 16. Gestationstages treten keine, nach X 15 nur noch 0,6 % an "sonstigen Tumoren" auf. Die weiteren Behandlungen des 15. Gestationstages führen zu einem annähernd gleichen Ergebnis (ENU 15 0,9 %, X+ENU 15 0,5 %, ENU+X 15 1,4 %).

Die ENU- und X+ENU-Behandlungen des 14. und 16. Gestationstages führen zu Tumorzinzidenzen, die entweder etwas unter (ENU 14 3,2 %, X+ENU 16 3,6 %) oder über (ENU 16 5,4 %, X+ENU 14 5,5 %) der Kontrollgruppe liegen.

Am 14. und 16. Gestationstages reduziert die ENU+X-Behandlung das Auftreten der "sonstigen Tumoren" auf 1,4 % bzw. 1,1 %.

4.4.3. Geschlechtliche Differenzierung des unter 4.4.2. angeführten Gesamtergebnisses der Verteilung von tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen (Zusammenfassende Darstellung) (Tabelle 6 b)

Um eine Aussage zum geschlechtlichen Verteilungsmuster der Ergebnisse machen zu können, müssen diese mit der in Tabelle 4 zusammengestellten Übersicht zur Anzahl der pathologisch untersuchten Tiere und deren geschlechtlichen Aufschlüsselung verglichen werden.

Es zeigt sich, daß leichte Verschiebungen mancher Ergebnisse mit der einseitigen geschlechtlichen Gesamtverteilung innerhalb der Versuchsgruppen zu erklären sind. Bei anderen Ergebnissen, in denen eine einseitige geschlechtliche Verteilung nur angedeutet ist, unterstreicht gerade der Vergleich mit der Gesamtverteilung eine geschlechtliche Präferenz.

Die Anzahl der an Leukose erkrankten Tiere ist in der Kontrollgruppe gleichmäßig auf männliche und weibliche Tiere verteilt (5,2 % zu 6,6 %).

Die geringe Leukoseinzidenz nach der X-Behandlung macht es nicht möglich, in dieser Behandlungsgruppe eine geschlechtsspezifische Differenzierung durchzuführen (X 14 0 %, X 15 0,6 % männliche Tiere, X 16 1,7 % weibliche Tiere).

Nach der ENU 14- und ENU 15-Behandlung ist die einseitige Verschiebung des Ergebnisses zugunsten der männlichen Tiere (4,4 % männliche Tiere, 2,0 % weibliche Tiere bzw. 2,9 % männliche Tiere, 1,0 % weibliche Tiere) mit der gerade beschriebenen einseitigen Gesamtverteilung innerhalb dieser Versuchsgruppen zu erklären.

Die ENU 16 Behandlung führt bei 1 % der männlichen und 3,1 % der weiblichen Tiere zu einer Leukoseinzidenz. Der Vergleich mit der Gesamtverteilung (105 männliche, 91 weibliche Tiere) unterstreicht diese eindeutig weibliche Präferenz.

Dasselbe gilt für die ENU+X 14-Behandlung. Einer geschlechtlichen Differenzierung von 1,2 % an männlichen und 2,9 % an weiblichen Tumorträgern liegt eine Gesamtverteilung von 95 männlichen zu 77 weiblichen Tieren zugrunde.

Nach X+ENU 15 und X+ENU 16 wird unter Berücksichtigung der Gesamtverteilung das Ergebnis zugunsten der männlichen Tiere verschoben (X+ENU 15 1,6 % zu 1,1 %, 88 männliche Tiere zu 100 weiblichen Tieren bzw. X+ENU 16 1,2 % zu 1,2 %, 88 männliche Tiere zu 100 weiblichen Tieren).

Die Kombinationsbehandlungen ENU+X des 15. und 16. Gestationstages zeigen keine geschlechtsspezifischen Besonderheiten.

Die sehr niedrige absolute Inzidenz an Leukosefällen muß bei dieser relativen geschlechtlichen Verteilung berücksichtigt werden.

Die Lungentumoren zeigen unter Berücksichtigung der Gesamtverteilung an männlichen und weiblichen Tieren in keiner der Untersuchungsgruppen eine geschlechtsspezifische Präferenz.

Die Untersuchung der Lebertumor-Ergebnisse zeigt eindeutig eine bevorzugte Inzidenz dieses Tumors bei den männlichen Tieren.

Die sehr hohe Inzidenz dieses Tumors, verglichen mit den Leukosen, unterstreicht diese Feststellung.

In der Kontrollgruppe und in den mit X-behandelten Gruppen treten nur nach X 14 bei 1,1 % der Tiere Lebertumoren auf.

Die ENU-Einzel- und -Kombinationsbehandlungen führen zu einem hochsignifikanten Anstieg der Lebertumorrates. Davon sind aber überwiegend nur männliche Tiere betroffen.

Nach ENU 14 sind bei einer Inzidenz von 10,8 % Lebertumoren die weiblichen Tiere nur in 2,4 % der Fälle betroffen. Nach ENU 15 sind es bei einer Inzidenz von 5,8 % nur 0,5 %, nach ENU 16 bei einer Inzidenz von 4,6 % wiederum nur 0,5 % weibliche Tumorträger.

Die Kombinationsbehandlungen führen zu ähnlichen Verhältnissen.

Am Ergebnis nach der X+ENU 14-, 15- und 16-Behandlung sind die weiblichen Tiere nur zu einem Fünftel, Siebtel bzw. Zehntel beteiligt (8,4 % zu 1,7 % bzw. 8,5 % zu 1,1 % bzw. 12 % zu 1,2 %).

Auch die umgekehrte ENU+X-Behandlung führt an allen 3 Gestationstagen zu einer annähernd gleichen Tumorzinzenz bei den weiblichen Tieren. 1,2 % nach ENU+X 14 trägt zu einem Achtel, 1,9 % nach ENU+X 15 zu einem Fünftel, 1,1 % nach ENU+X 16 zu einem Viertel am gesamten Lebertumorergebnis bei.

Diese Präferenzen zugunsten der männlichen Tiere verschieben sich nach Berücksichtigung der Gesamtverteilung in den Versuchsgruppen nur noch unwesentlich.

Bei der geschlechtsspezifischen Untersuchung der Hämangio-sarkomrate fällt zunächst auch eine Verschiebung der Tumorzinzenz zugunsten der männlichen Tiere auf.

Es ist jedoch in besonderem Maße zu berücksichtigen, daß die absolute Inzidenz dieses Tumors sehr niedrig ist und daher die geschlechtsspezifische Verteilung nicht statistisch abgesichert werden kann.

Trotzdem kann festgehalten werden, daß nach X 14, X 15, X+ENU 16 und ENU+X 15 nur männliche Tiere mit 0,5 %, 0,6 %, 3,0 % und 2,3 % von diesem Tumor betroffen sind.

Nach der X+ENU 15-Behandlung wird das Ergebnis von 1,6 % an männlichen Tumorträgern zu 0,5 % an weiblichen Tumorträgern durch die Berücksichtigung der Gesamtverteilung (88 männliche und 100 weibliche Tiere) zugunsten der männlichen Tiere unterstrichen.

Ausnahmsweise tritt nach der ENU 16-Behandlung bei mehr weiblichen als männlichen Tieren das Hämangiosarkom auf (0,5 % männliche Tiere, 2,0 % weibliche Tiere).

Es bleibt festzustellen, daß beim seltenen Auftreten des Hämangiosarkoms eine Präferenz zugunsten der männlichen Tiere besteht.

Die heterogene Zusammensetzung und niedere Inzidenz der Rubrik "sonstige Tumoren" erlaubt keine geschlechtliche Differenzierung.

4.4.4. Verteilung der tumorösen Erkrankungen bis zum 12.

Lebensmonat

(Zusammenfassende Darstellung)

(Tabelle 7)

Die Angabe der Tumorträger in % bezieht sich auf die Gesamtzahl der bis zum 12. Lebensmonat in den jeweiligen Versuchsgruppen gestorbenen Tiere (siehe Tabelle 4).

Dadurch entstehen relative Inzidenzen, die eine in Wirklichkeit niedrige absolute Inzidenz an Tumorträgern in den Versuchsgruppen verbirgt, weswegen auch keine abgrenzende Statistik durchgeführt werden konnte.

Mit Vorbehalt kann aber trotzdem eine Aussage über die Wirkung der X- und ENU-Einzel- und -Kombinationsbehandlung gemacht werden.

Bewertet man nicht, wie in den vorhergehenden Abschnitten, das Auftreten definierter Tumoren in Abhängigkeit von der Behandlung, sondern umgekehrt, die Abhängigkeit der relativen Tumorzinzenzen von den Behandlungsgruppen, so fällt auf, daß nur die Kontrollen in 9,1 % der Todesfälle bis zum 12. Lebensmonat Leukosen zu verzeichnen haben. Andere Tumoren treten nicht auf.

Die X-Behandlung am 14., 15. und 16. Gestationstag führt bis zum 12. Lebensmonat zu einer nahezu totalen Reduktion der Tumorzinzenzen.

Nur nach der X-Behandlung am 14. bzw. 15. Gestationstag tritt in 9 % bzw. 14,3 % der Todesfälle ein Hämangiosarkom auf.

Die ENU-Behandlung führt zu einem breiteren Tumorspektrum.

Mit abnehmender Inzidenz vom 14. zum 16. Gestationstag treten in 4,6 %, 2,1 % und 0 % der Todesfälle Leukosen auf.

Die Lungentumorzinzenzen liegen nach ENU 14, 15, 16 bei 15,6 %, 13,4 % und 14,1 %.

Diese Lungentumorzinzenzen bedeuten gleichzeitig die höchsten Tumorzinzenzen aller Behandlungsgruppen.

Leber- und Uterustumoren treten nach der ENU-Behandlung nicht vor dem 12. Lebensmonat auf.

ENU 15 und ENU 16 führen in 4,4 % bzw. 1,9 % der Todesfälle zu Ovaratumoren.

Nach den Lungentumoren haben die Hämangiosarkome die höchste Inzidenz in allen Behandlungsgruppen. 4,6 %, 5,2 % und 4,3 % aller bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen Tiere haben nach der ENU 14, ENU 15 und ENU 16-Behandlung Hämangiosarkome.

"Sonstige Tumoren" treten nur nach ENU 14 bei 2,8 % der Todesfälle auf.

Die X+ENU-Behandlung führt an den 3 Gestationstagen zu einer nahezu gleichen Leukoserate wie die ENU-Einzelbehandlung (X+ENU 14 4,1 %, X+ENU 15 2,4 % und X+ENU 16 0 %).

Lungentumoren treten nach X+ENU 14 bei 10,8 % der Todesfälle, nach X+ENU 15 bei 8,5 % der Todesfälle und nach X+ENU 16 bei 13,8 % der Todesfälle auf.

Uterustumoren werden nach dieser Behandlung bis zum 12. Lebensmonat nicht diagnostiziert.

Nach X+ENU 14 kommt es zu einer Lebertumorinzidenz von 2,7 %. Nur diese Behandlung führt zu einer Lebertumorinzidenz, die vor dem 12. Lebensmonat auftritt.

Auch Ovarietumoren treten nur nach der X+ENU-Behandlung am 14. Gestationstag in 5,4 % der Todesfälle auf.

Die Hämangiosarkome treten mit einer vergleichsweise ähnlichen Inzidenz wie nach der ENU-Behandlung auf (X+ENU 14 5,4 %, X+ENU 15 4,9 %, X+ENU 16 8 %).

"Sonstige Tumoren" können nur nach X+ENU 14 (2,7 %) diagnostiziert werden.

Die ENU+X-Behandlung des 14. Gestationstag führt bei 7,4 % der Todesfälle zu Leukosen. Nach ENU+X 15 und 16 ist die Inzidenz geringer (1,6 % bzw. 3,2 %). Nur nach der ENU+X-Behandlung treten auch am 16. Gestationstag Leukosen auf.

Die Lungentumoren haben nach der Behandlung am 14., 15. bzw. 16. Gestationstag eine Inzidenz von 11,1 %, 9,8 % bzw. 4,9 %.

Leber- und Uterustumoren werden nicht festgestellt.

Nach ENU+X 16 treten bei 3,1 % der Todesfälle Ovarumtoren auf.

Die Hämangiosarkome haben nach ENU+X 14 eine Inzidenz von 5,6 %, nach ENU+X 5 eine Inzidenz von 8,2 % und nach ENU+X 16 eine Inzidenz von 3,3 %.

ENU+X vom 14. Gestationstag und vom 16. Gestationstag führen bei 1,9 % bzw. 1,6 % der Todesfälle zu einer Inzidenz an "sonstigen Tumoren".

4.4.5. Sektionsergebnisse vom 12. Lebensmonat

(Tabelle 8)

Die Sektionsergebnisse der Tabelle 8 addieren sich mit den Ergebnissen der Tabelle 7 (Sektionsergebnisse bis zum 12. Lebensmonat) zum Gesamtergebnis der Tabelle 6 a auf.

Da die Anzahl der Todesfälle in manchen Behandlungsgruppen vor dem 12. Lebensmonat sehr gering war (z.B. X-Behandlung), entspricht das Sektionsergebnis in Tabelle 8 teilweise dem Gesamtergebnis der Tabelle 6 a.

Dies wird bei der folgenden Besprechung berücksichtigt. Es sollen daher vor allem die sich unterscheidenden Ergebnisse herausgestellt werden.

In der Tabelle 8 ist die Bezugsgröße, d.h. die Zahl der im 12. Monat untersuchten Tiere kleiner als in der Tabelle 6 a. Dadurch sind die relativen Tumorzinzenzen der Tabelle 8 größer oder wenigsten gleich groß.

Eine Ausnahme bilden die Hämangiosarkome. Sie treten bei der Kontroll- und der X-behandelten-Gruppe bei der Sektion im 12. Lebensmonat nicht auf.

Die Spalte "sonstige Tumoren" ist im Anhang der Tabelle 8 weiter aufgeschlüsselt.

Aus den oben angeführten Gründen (geringe Tumorzinzidenz bei einer kleinen Anzahl von bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen Tieren) sind die Ergebnisse der Kontrollgruppe und den mit X-behandelten Tiergruppen von Tabelle 8 in hohem Maße mit den Gesamtergebnissen der Tabelle 6 a identisch.

Die Kontrollgruppe zeichnet sich durch ein relativ breites Spektrum an nicht näher besprochenen "sonstigen Tumoren" aus.

Es sind dies Nierentumoren (1,5 %), Gekrösetumoren (1 %), Lymphknotentumoren (0,5 %), Darmtumoren (0,5 %) und Thymus-tumoren (0,5 %).

Die mit ENU-behandelten Tiergruppen des 14. und 16. Gestationstages haben mit 7,8 % bzw. 7,7 % eine nahezu gleiche Leukoseinzidenz. Nach der Behandlung am 15. Gestationstag beträgt die Inzidenz 5,2 %.

Der Befund eines Lungentumors ist in dieser Behandlungsgruppe bei fast jedem Tier gegeben (ENU 14 99 %, ENU 15 96,4 %, ENU 16 94,2 %) und liegt damit deutlich über der Lungentumorinzidenz des Gesamtergebnisses (ENU 14 62,4 %, ENU 15 57,7 %, ENU 16 56,6 %).

Die Inzidenz an Leber-, Ovar- und Uterustumoren bei den im 12. Lebensmonat seziierten Tieren ist bei einer um die Hälfte kleineren Anzahl an untersuchten Tieren ungefähr doppelt so groß wie bei den im Gesamtergebnis in Tabelle 6 a angeführten entsprechenden Tumorarten (siehe Tabelle 8 und 6 a).

Bei der Sektion im 12. Lebensmonat kann nur nach ENU 16 ein Hämangiosarkom festgestellt werden (1 %).

Die Inzidenz an "sonstigen Tumoren" fällt an jedem Gestationstag nach der ENU-Behandlung geringer als in der Kontrollgruppe (4 %) aus (ENU 14 3,5 %, ENU 15 1,8 %, ENU 16 2,0 %).

Auch die Variabilität ist mit höchstens 3 verschiedenen Tumorarten geringer als in der Kontrollgruppe (ENU 14: Hodentumo-

ren 2,1 %, Thymustumoren 0,7 %, Hauttumoren 0,7 %, ENU 15: Thymustumoren 1,8 %, ENU 16: Thymustumoren 1 %, Darmtumoren 2 %).

Die X+ENU-Kombination des 14. Gestationstages führt zu einer relativ niederen Leukoseinzidenz von 2,4 %.

Nach der X+ENU-Behandlung am 15. und 16. Gestationstag treten bei 2,8 % bzw. 3,7 % aller im 12. Lebensmonat getöteten Tiere Leukosen auf.

Die Behandlung mit X+ENU führt zur höchsten Lungentumorinzidenz aller Versuchsgruppen (X+ENU 14 98 %, X+ENU 15 99 %, X+ENU 16 100 %).

Die Auswertung der Lebertumoren ergibt nach X+ENU am 14. Gestationstag bei 13,1 % der im 12. Lebensmonat seziierten Tiere diese Diagnose, nach X+ENU am 15. bzw. 16. Gestationstag bei 17,0 % bzw. 20,2 % der seziierten Tiere.

Die Inzidenz der Ovartumoren hat eine ähnliche Verteilung auf die einzelnen Gestationstage wie die der Lebertumoren (X+ENU 14 11,5 %, X+ENU 15 24,6 %, X+ENU 16 22,7 %).

Die Uterustumoren haben nach der X+ENU-Behandlung am 16. Gestationstag die höchste Inzidenz mit 20,5 %. Dieses Ergebnis liegt im Bereich der Uterustumorinzidenz der Kontroll- und der mit X-behandelten Tiergruppe. Die Behandlung am 14. bzw. 15. Gestationstag führt zu einer Tumorrare von 7,7 % bzw. 3,5 %.

Nach X+ENU 14 werden bei 1,8 % der im 12. Lebensmonat seziierten Tiere Hämangiosarkome festgestellt.

Außer den gerade besprochenen Tumoren treten nach X+ENU am 14. Gestationstag noch 1,8 % Hodentumoren und 0,6 % Nierentumoren bzw. Thymustumoren auf. Nach X+ENU 15 treten noch 0,9 % Hodentumoren auf. Nach X+ENU 16 ist die Variabilität der "sonstigen Tumoren" ähnlich groß wie bei der Kontroll-

gruppe (Hodentumoren 1,8 %, Augentumoren 0,9 %, Nierentumoren 0,9 %, Hauttumoren 0,9 % und Thymustumoren 0,9 %).

Zur X+ENU-Behandlung kann festgestellt werden, daß nach X+ENU 16 sowohl die höchste Inzidenz an Leukosen als auch die höchste Inzidenz an Lungen-, Leber-, Uterus- und "sonstigen-Tumoren" auftreten.

Die umgekehrte ENU+X-Behandlung hat nicht wie die X+ENU-Sequenz bevorzugt am 16. Gestationstag die höchste Tumorzinidenz.

Ausnahmsweise trifft dies in diesem Falle auch für die Leukosen zu. Nach der Behandlung am 16. Gestationstag wird mit 6,6 % das höchste Ergebnis aller ENU+X-Behandlungen erreicht. Nach ENU+X 14 bzw. 15 treten bei 2,5 % bzw. 3,3 % der untersuchten Tiere Leukosen auf.

Die ENU+X-Behandlung am 14. Gestationstag führt zu den meisten Lungentumoren (97,5 %). ENU+X 15 und ENU+X 16 führen mit 69,7 % bzw. 78,5 % zu einer Lungentumorzinidenz, die weit niedriger ausfällt als alle anderen im 12. Lebensmonat bei der Sektion ermittelten Lungentumorzinidenzen der ENU-Einzel- und Kombinationsbehandlungen.

Die höchste Lebertumorraten wird nach der ENU+X-Behandlung am 15. Gestationstag mit 16,4 % erreicht. Während das Ergebnis vom 14. Gestationstag mit 15,3 % annähernd gleich ist, ist die Tumorraten nach der Behandlung am 16. Gestationstag mit 7,4 % sehr viel niedriger.

Am 16. Gestationstag wird auch die niedrigste Inzidenz an Ovarialtumoren erreicht (6,4 %). ENU+X 14 und 15 führen dagegen bei 15,1 % bzw. 13,9 % der Tiere zu diesem Tumor.

Die Uterustumoren treten nach dieser Behandlungssequenz an allen 3 Gestationstagen mit einer ungefähr gleich großen Inzidenz auf (ENU+X 14 5,7 %, ENU+X 15 6,0 % und ENU+X 16 4,8 %).

Die Diagnose eines Hämangiosarkoms kann bei der Untersuchung im 12. Lebensmonat an keinem der 3 Gestationstage festgestellt werden.

Die Inzidenz der "sonstigen Tumoren" fällt nach ENU+X am 14. Gestationstag mit 2,5 % (Thymustumoren 1,7 %, Nierentumoren 0,8 %), am 15. Gestationstag mit 2 % (Nierentumoren 2,0 %) und am 16. Gestationstag mit 0,8 % (Darmtumoren 0,8 %) vergleichsweise niedrig aus.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß nach der Behandlung am 16. Gestationstag die untersuchten Tumoren nicht wie bei der X+ENU-Kombination meist die höchste, sondern bei der umgekehrten ENU+X-Kombination bevorzugt die niedrigste Inzidenz haben.

4.4.6. Latenzzeitbestimmung

(Kriterium ist die Tumorexpression bezogen auf den
12. Lebensmonat)
(Tabelle 9)

Die Tabelle 9 gibt an, wieviel Prozent der Leukosen, Lungentumoren, Lebertumoren, Ovarialtumoren, Uterustumoren und Hämangiosarkome sich bis zum 12. Lebensmonat, wieviel erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat manifestiert haben.

4.4.6.1. Leukosen

In der Kontrollgruppe treten von der Gesamtzahl der Leukosen nur 2,9 % bis zum 12. Lebensmonat auf.

Nach der X-Behandlung werden Leukosen, sofern sie überhaupt auftreten (keine Inzidenz bei X 14), erst bei der Sektion offensichtlich.

Nach der ENU-Behandlung am 14. Gestationstag verteilen sich die Leukosen auf die Gruppen "Tumorzinzidenz vor dem 12. Monat" und "Tumorzinzidenz im 12. Monat" in einem Verhältnis von 1 zu 2 (31,3 % / 68,7 %). Die ENU-Behandlung am 15. Gestationstag führt zu einem Verhältnis von 1 zu 3 (25,0 % / 75,0 %). Nach ENU 16 werden die Leukosen ausschließlich bei der Sektion im 12. Lebensmonat diagnostiziert (0 % / 100 %).

Nach X+ENU kommt es zu einer ähnlichen Tumorverteilung wie nach der ENU-Einzelbehandlung. Vom 14. zum 16. Gestationstag verschieben sich die Verhältnisse der Tumorzinzidenzen, so daß nach der Behandlung am 16. Gestationstag die Leukosen ausschließlich bei der Sektion im 12. Lebensmonat diagnostiziert werden (42,9 % / 47,1 %, 40 % / 60 %, 0 % / 100 %).

Bei der umgekehrten ENU+X-Behandlung des 14. Gestationstages tritt der Fall auf, daß bis zum 12. Lebensmonat mehr Tiere Leukosen haben als bei der Sektion im 12. Lebensmonat (57,1 % / 52,9 %). Nach ENU+X 15 und 16 kommt es wieder zu ähnlichen Verhältnissen wie nach der entsprechenden X+ENU-Behandlung. Auch bei dieser Behandlungssequenz treten am 15. und 16. Gestationstag die meisten Leukosen erst im 12. Lebensmonat auf (16,7 % / 83,3 %, 20 % / 80 %).

4.4.6.2. Lungentumoren

Lungentumoren werden bei der Kontrollgruppe und bei den mit X behandelten Tieren erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat festgestellt (0 % / 100 %).

ENU führt an allen drei Gestationstagen zu einer ungefähr gleich großen Verteilung der Lungentumorzinzidenz bis zum 12. Lebensmonat bzw. im 12. Lebensmonat (ENU 14 10,9 % / 89,1 %, ENU 15 10,8 % / 89,2 %, ENU 16 11,7 % / 88,3 %).

Nach der X+ENU-Kombination treten bis zum 12. Lebensmonat weniger Lungentumoren auf als nach der ENU-Einzel-Behandlung. Es liegen Verteilungen von 4,7 % zu 95,3 % (14. Gestationstag), 6,3 % zu 93,7 % (15. Gestationstag) und 6,8 % zu 93,2 % (16. Gestationstag) vor.

Die umgekehrte ENU+X-Kombination führt zu einem ähnlichen Ergebnis. Wiederum manifestiert sich die weitaus größte Zahl der Lungentumoren erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat. Dies trifft vor allem für die ENU+X-Behandlung des 16. Gestationstages zu (ENU+X 14 5,0 % / 95,0 %, ENU+X 15 5,4 % / 94,6 %, ENU+X 16 3,1 % / 96,9 %).

4.4.6.3. Lebertumoren

Die Latenzzeit der Lebertumoren beträgt bei den Kontrollen und bei den behandelten Tiergruppen, mit Ausnahme von X+ENU 14, mindestens 12 Monate.

Nur nach X+ENU 14 treten 8,3 % aller Lebertumoren schon vor dem 12. Lebensmonat auf. In den übrigen Versuchsgruppen wird dieser Tumor erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat diagnostiziert.

4.4.6.4. Ovartumoren

In den Kontroll- und X-Gruppen werden die Ovartumoren erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat festgestellt (0 % / 100 %).

Die ENU 14-Behandlung führt zum selben Verhältnis (0 % / 100 %). Nach ENU 15 und ENU 16 manifestieren sich dagegen schon 11,8 % bzw. 16,7 % der Ovartumoren bis zum 12. Lebensmonat.

Dagegen werden nach der X+ENU-Kombination des 15. bzw. 16. Gestationstages die Ovartumoren ausschließlich im 12. Lebensmonat diagnostiziert. Nach X+ENU 14 kommt es zu einer Verteilung der Ovartumorinzidenz von 18,2 % zu 81,8 %.

Die ENU+X-Sequenz führt an den drei Gestationstagen zu folgendem Verteilungsmuster:

Nach ENU+X 14 und 15 treten die Tumoren nicht vor dem 12. Lebensmonat auf (0 % / 100 %). Nach ENU+X 16 werden schon 20 % der Tumoren bis zur Sektion offenkundig (20 % / 80 %).

4.4.6.5. Uterustumoren

Die Uterustumoren werden als einzige Tumorart ausschließlich im 12. Lebensmonat bei der Sektion diagnostiziert.

In allen Versuchsgruppen hat somit dieser Tumor eine Latenzzeit von 12 oder mehr als 12 Monaten.

4.4.6.6. Hämangiosarkome

Bei den Hämangiosarkomen liegt der umgekehrte Fall vor.

Sofern in den Versuchsgruppen Hämangiosarkome auftreten, werden diese, mit Ausnahme von ENU 16 (80 % / 20 %) und X+ENU 14 (57,1 % / 42,9 %), schon vor dem 12. Lebensmonat manifest (100 % / 0 %).

Zur kürzesten Latenzzeit des Hämangiosarkoms kommt es mit drei Monaten nach der X+ENU-Behandlung am 16. Gestationstag und ENU+X-Behandlung am 14. Gestationstag. In den übrigen Behandlungsgruppen tritt das Hämangiosarkom nach 7 Monaten (X 14, X 15), nach 4 Monaten (ENU 14), nach 8 Monaten (ENU 15, ENU 16), nach 6 Monaten (X+ENU 14, X+ENU 15, ENU+X 15) und nach 9 Monaten (ENU+X 16) auf.

4.5. Bewertung der Kombinationswirkungen in den Versuchsgruppen (Tabelle 10)

Die Bewertung der Kombinationswirkungen von X und ENU wird, wie aus Tabelle 10 ersichtlich, an verschiedenen Meßgrößen durchgeführt.

Es sind dies die Maßzahlen der Tumorinduktion (siehe Tabelle 5), einzelne tumoröse Erkrankungen (siehe Tabelle 6), und die kumulative Mortalitätsrate nach 12 Monaten (siehe Tabelle 2).

In Anlehnung an Phillips (1977) werden die Ergebnisse der X- und ENU-Einzelbehandlung aufaddiert, mit dem Ergebnis der Kombinationsbehandlung verglichen und nach dem in "Material und Methode" beschriebenen Schema bewertet.

In Tabelle 10 werden durch die Bewertung der Kombinationswirkungen an den 3 aufeinander folgenden Gestationstagen 14, 15, 16 sowohl phasenspezifische Einflüsse erfaßt, als auch durch die unterschiedliche Behandlungsfolge (X+ENU bzw. ENU+X) sequenzielle Einflüsse berücksichtigt.

4.5.1. ... hinsichtlich der Tumorfrequenzen (Tabelle 10 a)

Die Kombination von X+ENU hat hinsichtlich der Meßgröße, "Tumortragende Tiere/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" (Tumorträgerinzidenz), an jedem Gestationstag ein niedrigeres Ergebnis als die Summe der X- und ENU-Einzelbehandlungen.

Am 14. Gestationstag führt die Kombination X+ENU zu einer Tumorträgerinzidenz von 73,5 %, ENU+X zu einer von 70,9 %. Diese Ergebnisse sind größer als die der entsprechenden Einzelbehandlungen. Sie sind aber auch niedriger als deren Summe.

Es liegt also in beiden Fällen eine subadditive Wirkung vor.

Am 15. Gestationstag beträgt nach der Kombination X+ENU (61,2 %) der Unterschied der Tumorträgerinzidenz zur ENU-Einzelbehandlung (58,2 %) nur noch 3 %.

Es liegt wiederum ein subadditiver Effekt vor.

Das Ergebnis der umgekehrten ENU+X-Behandlung (54,5 %) ist größer als das der X-Einzelbehandlung (27,4 %), aber kleiner als das der ENU-Einzelbehandlung (58,2 %).

Somit hat diese Kombination nach Phillips (1977) eine interferierende Wirkung.

Die Kombination X+ENU hat auch nach der Behandlung am 16. Gestationstag mit 67,7 % verglichen mit der X- (22,7 %) und ENU-Einzelbehandlung (56,6 %) eine subadditive Wirkung.

Die umgekehrte ENU+X-Kombination führt mit 51,1 % zur niedrigsten Tumorträgerinzidenz aller ENU-Einzel- und ENU-Kombinationsbehandlungen an den Gestationstagen 14, 15 und 16. Es liegt ein interferierender Effekt vor.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß an jedem Gestationstag die ENU+X-Kombination zu einer niedrigeren Tumorträgerinzidenz führt als die umgekehrte X+ENU-Kombination.

Bei der Untersuchung zur Phasenspezifität der Behandlung fällt auf, daß die Kombinationen am 14. Gestationstag zu höheren Tumorträgerinzidenzen führen (X+ENU 14 73,5 %, ENU+X 14 70,9 %) als am 16. Gestationstag (X+ENU 16 67,7 %, ENU+X 16 51,1 %).

Die "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (%)" hat nach der Kombination X+ENU am 16. Gestationstag im Vergleich mit den entsprechenden X- und ENU-Einzelbehandlungen (0,28 bzw. 4,4) eine synergistische Zunahme (5,7).

Bei der umgekehrten Kombination ENU+X beträgt dagegen, in der Annahme von 4 Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier, die Anzahl der Tumoren nur noch 2,2 (Interferenz).

Weniger als 2,2 Tumoren werden an keinem der untersuchten Gestationstage nach den ENU-Einzel- und -Kombinationsbehandlungen gezählt.

Nach den Kombinationsbehandlungen des 14. und 15. Gestationstages liegen die Ergebnisse jeweils über denen der X-Einzelbehandlungen und unter denen der ENU-Einzelbehandlungen. Somit wirken diese Kombinationen ebenfalls interferierend.

Unabhängig von der Sequenz der Behandlung führt diese am 14. Gestationstag zu einer annähernd gleichen Anzahl an Tumoren (3,5 bzw. 3,1).

Nach der X+ENU-Kombination des 15. und 16. Gestationstages ist die Anzahl der Tumoren größer (4,4 bzw. 4,7) als nach der ENU+X-Kombination (2,3 bzw. 2,2).

Zusammengefaßt liegt hinsichtlich der "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" folgendes Ergebnis vor:

Die X-Einzel- und X+ENU-Kombinationsbehandlungen des 16. Gestationstages haben die höchste, die des 14. Gestationstages die niedrigste Tumorausbeute.

Dagegen führen am 14. Gestationstag die ENU-Einzel- und die ENU+X-Kombinationsbehandlungen zur höchsten und am 16. Gestationstag zur niedrigsten Tumorzinzidenz.

Für die Meßgröße, "Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere", gilt mit einer Ausnahme dasselbe.

Wiederum führt die ENU-Einzelbehandlung und die ENU+X-Kombination des 14. Gestationstages zum höchsten, die des 16. Gestationstages zum niedrigsten Ergebnis.

Während aber nach der X-Einzelbehandlung des 16. Gestationstages wiederum das höchste und nach der des 14. Gestationstages das niedrigste Ergebnis erreicht wird, liegt nach der Kombination X+ENU vom 16. Gestationstag zwar das höchste, am 15. und nicht am 14. Gestationstag dagegen das niedrigste Ergebnis vor.

Am 16. Gestationstag führt die Summe der X-Einzel- und ENU-Einzelbehandlung genau zum gleichen Ergebnis wie die Kombination X+ENU 16.

Es liegt folglich eine Addition vor.

Nach ENU+X 16 treten nur 0,7 tumoröse Erkrankungen pro Gesamtzahl der untersuchten Tiere auf.

Diese Sequenz hat also einen interferierenden Effekt.

Am 14. Gestationstag führen die Kombinationen X+ENU bzw. ENU+X zu einer annähernd gleichen Anzahl an tumorösen Erkrankungen (0,97 bzw. 0,95) (Subaddition).

Die Kombinationsfolge X+ENU (0,83) des 15. Gestationstages wirkt bei Vergleich mit der ENU-Einzelbehandlung (0,82) subadditiv.

Die umgekehrte Sequenz ENU+X führt zu weniger tumorösen Erkrankungen (0,79) als nach der ENU-Einzelbehandlung und hat damit nur noch einen interferierenden Effekt.

Bei der Bewertung der Kombinationswirkungen hinsichtlich der "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere" liegt nur nach X+ENU am 16. Gestationstag eine subadditive Wirkung vor.

Den übrigen Kombinationsbehandlungen der drei Gestationstage liegt eine Interferenz zugrunde.

Am 14. Gestationstag führt die X+ENU-Kombination zu 4,13, die umgekehrte Kombination ENU+X zu 4,34 Tumoren.

Die Kombinationen wirken aber auch nur interferierend, da beide Werte jeweils deutlich unter dem der ENU-Einzelbehandlung (7,75) liegen.

Das Ergebnis der X+ENU-Behandlung vom 15. Gestationstag (7,20) unterscheidet sich nur wenig vom Ergebnis der ENU-Einzelbehandlung (8,05).

Das Ergebnis dieser Behandlungsfolge ist bei Vergleich mit den Ergebnissen der Einzelbehandlungen interferierend.

Dasselbe gilt für die umgekehrte ENU+X-Sequenz (4,22).

Die ENU+X-Behandlung vom 16. Gestationstag (4,36) führt zu einer annähernd gleichen Anzahl an Tumoren wie die entsprechende Sequenz vom 14. (4,34) und 15. (4,22) Gestationstag. Auch in diesem Fall liegt eine Interferenz vor.

Die Ergebnisse von X+ENU zeigen eine Abhängigkeit vom Gestationstag.

Nach X+ENU 14 kommt es zur niedrigsten (4,13), nach X+ENU 16 zur höchsten Anzahl an Tumoren (8,40).

"Tumoröse Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere"
treten am häufigsten nach der X-Einzel- und X+ENU-Kombinationsbehandlung vom 16. Gestationstag auf.

1,53 tumoröse Erkrankungen nach X+ENU 16 entsprechen einem subadditiven Effekt.

Die umgekehrte ENU+X-Sequenz führt zwar nur zu 1,38 tumorösen Erkrankungen, doch ist auch hier die Wirkung nach der Definition von Phillips (1977) subadditiv.

Die Wirkung der X+ENU-Kombination des 15. Gestationstages (1,36) ist bei Vergleich mit den entsprechenden Einzelbehandlungen (1,00 bzw. 1,41) interferierend.

Die umgekehrte ENU+X-Kombination führt zu mehr tumorösen Erkrankungen (1,46).

Dies entspricht einer Subaddition.

Nach den Kombinationsbehandlungen am 14. Gestationstag treten die wenigsten "tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der tumortragenden Tiere" verglichen mit den Ergebnissen der anderen Gestationstage auf (1,32 bzw. 1,34).

Bei beiden Sequenzen liegt eine Interferenz vor.

4.5.2. Verteilung der tumorösen Erkrankungen

(Tabelle 10 b)

Nach den Kombinationsbehandlungen am 14. Gestationstag treten weit weniger Leukosen auf als nach der ENU-Einzelbehandlung (6,4 %).

Es liegen sowohl nach X+ENU (2,9 %) als auch nach ENU+X (4,1 %) Interferenzen vor.

Nach der ENU-Behandlung am 15. Gestationstag treten bei nur 3,8 % der untersuchten Tiere Leukosen auf.

Da auch an diesem Gestationstag die Ergebnisse der Kombinationsbehandlungen niedriger liegen (2,7 % bzw. 2,8 %), ist die Wirkung ebenfalls interferierend.

Am 16. Gestationstag führt die X+ENU-Kombination zur niedrigsten, die ENU+X-Kombination zur höchsten Leukoserate aller Kombinationsbehandlungen der drei Gestationstage. Verglichen mit den Einzelbehandlungen liegt nach X+ENU 16 eine Interferenz, nach ENU+X 16 eine Subaddition vor.

Nach den Kombinationsbehandlungen des 14. Gestationstages treten die höchsten Inzidenzen an Lungentumoren auf (X+ENU 71,0 %, ENU+X 70,3 %).

Die Sequenz X+ENU führt zum selben Ergebnis, wie die Summe der Ergebnisse nach der X-Einzel- und ENU-Einzelbehandlung. Es liegt folglich eine Addition vor.

Die umgekehrte ENU+X-Sequenz führt zu einer Subaddition.

Die Lungentumorinzidenzen nach den Kombinationsbehandlungen am 15. Gestationstag liegen im Bereich der Inzidenz nach der ENU-Einzelbehandlung (57,7 %).

Mit 59,6 % liegt im Falle der Sequenz X+ENU eine Subaddition, im Falle der ENU+X-Sequenz dagegen mit 52,6 % eine Interferenz vor.

Dasselbe gilt für die Kombinationsbewertung des 16. Gestationstages. X+ENU bzw. ENU+X führen zwar zu etwas höheren Lungentumorinzidenzen (65,3 % bzw. 53,3 %) als die entsprechenden Behandlungen am 15. Gestationstages, doch liegt bei Vergleich mit den Einzelbehandlungen wiederum nach X+ENU eine Subaddition, nach ENU+X eine Interferenz vor.

Da die ENU-Einzelbehandlung des 14. Gestationstages (10,8 %) zu einer relativ hohen Lebertumorinzidenz führt, liegen den Kombinationbehandlungen X+ENU mit 10,1 % und ENU+X mit 10,5 % nur interferierende Effekte zugrunde.

Sämtliche Kombinationen des 15. und 16. Gestationstages haben eine synergistische Wirkung.

Da bei der X-Einzelbehandlung keine Lebertumorinzidenz zu verzeichnen ist, fällt die Summe der X- und ENU-Einzelbehandlungen relativ niedrig aus, so daß eine günstige Voraussetzung für einen synergistischen Effekt geschaffen ist.

Nach ENU+X 15 treten mit 11,7 % bei mehr Tieren Lebertumoren auf als nach X+ENU 15 mit 9,6 %.

Am 16. Gestationstag führen die Kombinationsbehandlungen zum umgekehrten Ergebnis.

Nach X+ENU 16 wird die höchste (13,2 %), nach ENU+X 16 die niedrigste Lebertumorinzidenz (4,9 %) aller Kombinationsbehandlungen an den Gestationstagen 14, 15 und 16 erreicht.

Die Kombinationsbehandlungen des 14. Gestationstages führen zu Ovartumorinzidenzen, die niedriger (X+ENU 9,6 %) bzw. höher (ENU+X 10,4 %) ausfallen als die der ENU-Einzelbehandlung (9,9 %).

Die Kombinationen haben daher eine interferierende bzw. eine subadditive Wirkung.

Da nach der ENU 15-Behandlung sehr viele Tiere mit Ovartumoren auftreten (20,0 %), kommt es in beiden Sequenzen der Kombinationsbehandlungen (14,0 % bzw. 10,0 %) nur zu interferierenden Effekten.

Am 16. Gestationstag führt wiederum X+ENU mit 14,5 % zur höchsten, nach ENU+X mit 5,3 % zur niedrigsten Ovariumtumorraten aller Kombinationsbehandlungen des 14., 15. und 16. Gestationstages.

Da sowohl die X- (9,8 %) als auch die ENU-Einzelbehandlung (6,6 %) zu einer höheren Ovariumtumorraten als die ENU+X-Kombinationsbehandlung (5,3 %) führt, liegt in diesem Fall ein Antagonismus vor.

X+ENU 16 führt bei 14,5 % der Tiere zu Ovariumtumoren.

Dieses Ergebnis ist höher als das der entsprechenden Einzelbehandlungen, aber niedriger als die Summe der Einzelbehandlungen.

Somit liegt bei dieser Kombination ein subadditiver Effekt vor.

Mit Ausnahme der X+ENU-Behandlung des 16. Gestationstages haben alle übrigen Kombinationsbehandlungen der drei Gestationstage im Vergleich mit den jeweiligen Einzelbehandlungen eine antagonistische Wirkung auf die Uterustumorinzidenz.

Bei der Behandlung am 14. Gestationstages führt X+ENU zu einer höheren Lebertumorraten (5,2 %) als ENU+X (3,9 %).

Am 15. Gestationstages verhält es sich umgekehrt.

Nach X+ENU treten 2,0 %, nach ENU+X 5,0 % Uterustumorträger auf.

X+ENU 16 unterscheidet sich durch eine ausnahmsweise hohe Tumorzinzidenz (13,0 %). Da aber, wie an allen anderen Gestationstagen, die X-Einzelbehandlung auch am 16. Gestationstag zu einer sehr hohen Uterustumorinzidenz (16,7 %) führt, liegt, obwohl das Ergebnis der ENU-Einzelbehandlung übertroffen wird, nur eine Interferenz vor.

Der ENU+X-Behandlung des 16. Gestationstages liegt mit 3,6 % an Uterustumorträgern ein antagonistischer Effekt zugrunde.

Da die Inzidenz der Hämangiosarkome sowohl nach den Einzel- als auch nach den Kombinationsbehandlungen sehr niedrig ist, führt ein Bewertungsmaßstab, wie er hier nach einer Definition von Phillips (1977) verwendet wird, zu entsprechend unterschiedlichen Ergebnissen.

Während nach X+ENU 14 mit 2,9 % an Hämangiosarkomen ein Synergismus vorliegt, wirkt die Kombination ENU+X 14 mit 1,7 % nur noch interferierend.

Dasselbe gilt für den 16. Gestationstag.

X+ENU 16 führt mit 3,0 % an Hämangiosarkomen bei Vergleich mit den Ergebnissen der Einzelbehandlungen zu einem Synergismus, ENU+X 16 mit 1,1 % zu einer Interferenz.

Die Kombinationsbehandlungen des 15. Gestationstages führen zu annähernd gleichen Ergebnissen (2,1 % bzw. 2,3 %).

In jedem Fall liegt eine Interferenz vor.

4.5.3. Kumulative Mortalitätsraten nach 12 Lebensmonaten

(Tabelle 10 c)

Die kumulativen Mortalitätsraten nach 12 Monaten liegen bei sämtlichen Kombinationsbehandlungen der drei Gestationstage unter denen der jeweiligen ENU-Einzelbehandlungen bzw. über denen der jeweiligen X-Einzelbehandlungen.

In jedem Fall liegt daher der Kombination eine interferierende Wirkung zugrunde.

Am 14. und 16. Gestationstag führt die X+ENU-Sequenz zu einer geringeren kumulativen Mortalitätsrate (39,5 % bzw. 44,4 %) als die umgekehrte ENU+X-Sequenz (42,4 % bzw. 47,1 %).

Am 15. Gestationstag sind dagegen nach X+ENU schon 50,2 % der Tiere, nach ENU+X erst 42,3 % der Tiere bis zum 12. Monat gestorben.

4.6. Literaturübersicht zur Induktion von Hämangiosarkomen (Tabelle 11)

Die Auswertung der Literatur zur Induktion von Hämangiosarkomen durch Bestrahlung mit Sr 90 und Ce 144 macht deutlich, daß erst bei Dosen von über 10 Gy mit einem Auftreten dieses selten diagnostizierten Tumors zu rechnen ist.

Die einmalige Inzidenz des Hämangiosarkoms nach der Bestrahlung mit 1 Gy am 14. und 15. Gestationstag ist daher als besonders herausragendes Ergebnis zu werten.

Das relativ häufige Auftreten dieses Tumors nach der ENU- und X+ENU- bzw. ENU+X-Behandlung zeigt, daß auch diesen Behandlungsschemata eine Bedeutung bei der Induktion des Hämangiosarkoms beigemessen werden muß.

Nach den X+ENU-Kombinationen des 14. und 16. Gestationstages werden die höchsten Inzidenzen festgestellt.

Die Literaturstudie zur Induktion von Hämangiosarkomen mit Nitroso- und Nitrosoharnstoffverbindungen bringt Beispiele ähnlicher Relation zwischen der Größenordnung des applizierten Agens und Häufigkeit der Tumormanifestationen.

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden postnatale Kurz- und Langzeiteffekte nach der Einzel- bzw. Kombinationsbehandlung trächtiger NMRI-Mäuse mit Röntgenstrahlen und ENU untersucht. Durch die Erweiterung der Behandlung auf den 14., 15. und 16. Gestationstag wurden phasenspezifische Besonderheiten des Trächtigkeitsstadiums zum Zeitpunkt der Strahlen- bzw. ENU- Exposition auf die bewirkten Früh- und Spätschäden erfaßt.

Auswirkungen der Behandlungsfolge wurden durch die Untersuchung sowohl der X+ENU- als auch der ENU+X-Sequenz dargestellt.

5.1. Früheffekte

Erste postnatale Strahleneffekte manifestieren sich in einem reduzierten Geburtsgewicht.

In Abhängigkeit von der Gestationsphase zum Zeitpunkt der Bestrahlung wird nach der Behandlung am 14. Gestationstag das geringste, nach der vom 16. Gestationstag das höchste durchschnittliche Tiergewicht bei der Geburt festgestellt. Über einen Beobachtungszeitraum von 12 Monaten bleiben diese Relationen der durchschnittlichen Tiergewichte in den Untersuchungsgruppen zueinander erhalten, so daß im 12. Lebensmonat nach X 14 wiederum die größte und nach X 16 die geringste Gewichtsreduktion festgestellt werden kann.

Prä- und postnatale Gewichtsentwicklung scheinen somit eng mit dem Differenzierungsgrad der Zellen im Tierorganismus zum Zeitpunkt des Strahleninsultes korreliert zu sein.

Rugh et al. (1966) stellten bei einer systematischen Untersuchung eines jeden Gestationstages von CF₁-Mäusen fest, daß nach der Bestrahlung am 11., 12. bzw. 13. Gestationstag mit jeweils 100 Röntgen (R) die Gewichtseinbußen nach 35 Monaten am größten waren. Sie führten dies auf eine Läsion der in dieser Gestationsphase verstärkt ablaufenden Osteoblastenaktivität zurück, wodurch eine unvollständige Skelettformierung nicht ganzheitlich zum Gesamtgewicht beitragen kann.

Somit sind es die hochsensitiven embryonalen Anlagen einer Gewebestruktur bzw. eines Organs, die in der Organogenese bzw. der frühen Fetalperiode in erster Linie durch einen Strahleninsult cytoletal geschädigt werden können.

Geburtsgewichte und Gewichtsentwicklung der am 14. bzw. 16. Gestationstag bestrahlten Tiergruppen zeigen aber, daß das Ausmaß der Schädigungsmöglichkeit fetaler Zellen durch Strahleneinwirkung in einem direkten Verhältnis zu deren im Verlauf der pränatalen Entwicklung ablaufenden Ausdifferenzierung steht.

Da die Exposition mit 1 Gy Röntgenstrahlen bis zum 12. Monat keinen Einfluß auf die Mortalitätsraten zeigen, kann in Übereinstimmung mit zahlreichen anderen Untersuchungen (Russell 1950, Wilson et al. 1953, Nash et al. 1962, Rugh et al. 1966) festgestellt werden, daß die pränatale Bestrahlung auf den Säugerorganismus zu einer Gesamtretardierung führt und ein reduziertes Geburtsgewicht und eine langfristig nicht kompensierbare Minderung der Wachstumsleistung, gleichzusetzen einer unspezifischen Vitalitätsminderung, die dominierenden Schädigungsformen darstellen (Konermann 1969, 1976).

Einflüssen, welche postnatal die Gewichtsentwicklung von Seiten des Muttertieres (Laktationsstörungen) beeinträchtigen können, wird keine Bedeutung zugemessen (Russell 1950, Wilson et al. 1951, Brent 1957).

Die ENU-Behandlung der trächtigen NMRI-Mäuse führt bei den Nachkommen zunächst ebenfalls zu reduzierten Geburtsgewichten. Im Gegensatz zur Gruppe der bestrahlten Tiere liegt aber keine Abhängigkeit von der Gestationsphase zum Zeitpunkt der Behandlung vor.

Während der anschließenden Monate treten die Folgeschäden der ENU-Behandlung vor allem nach dem 6. Monat auf. In Verbindung mit einer zunächst reduzierten, dann sogar negativen Gewichtsentwicklung kommt es ab dem 9. Monat zu einem sprunghaften Anstieg der Mortalitätsraten von 31,7 % (ENU 14), 22,5 % (ENU 15) und 25,3 % (ENU 16) auf 51,4 % (ENU 14), 51,9 % (ENU 15) und 55,0 % (ENU 16).

Die Kombinationsversuche mit X und ENU zeigen wie bei der Bestrahlung schon bei der Geburt am 19. Tag post conceptionem deutliche sequenzielle und phasenspezifische Einflüsse der Behandlung.

5 Tage ante partum, d.h. am 14. Gestationstag, führt die Kombinationsbehandlung sowohl in der X+ENU als auch in der ENU+X Sequenz zu geringeren Geburtsgewichten als nach den entsprechenden Behandlungen des 15. bzw. 16. Gestationstages.

Der Grad der zellulären Schädigung kommt somit, wie schon bei den Geburtsgewichten der bestrahlten Tiere diskutiert, in einer Retardierung der weiteren fetalen Entwicklung bei den in einer frühen Gestationsphase behandelten Tieren am deutlichsten zum Ausdruck.

Nach den Kombinationsbehandlungen des 14. Gestationstages ist auch der Unterschied der Geburtsgewichte zu den entsprechenden Einzelbehandlungen am größten.

Bei Vergleich der beiden Sequenzen erweist sich X+ENU nicht nur beim Geburtsgewicht, sondern auch während der Gewichtsentwicklung über die folgenden 12 Monate als wirkungsvoller. Die schon bei der Geburt bestehenden Gewichtsunterschiede der einzelnen X+ENU- und ENU+X-Behandlungsgruppen haben sich am Ende des Beobachtungszeitraumes im 12. Lebensmonat nicht aufgehoben (Koner mann 1976).

Da die ENU-Behandlung des 14., 15. und 16. Gestationstages zu relativ gleichen Geburtsgewichten führte, die X-Behandlung aber eine deutliche Abhängigkeit von der Gestationsphase zum Zeitpunkt der Exposition zeigte und diese Phasenspezifität der Geburtsgewichte vor allem auch nach der X+ENU-, weniger nach der ENU+X-Sequenz, auftrat, scheint die Bestrahlung bei der Kombinationsbehandlung die eigentliche Determinante für diesen postnatalen Kurzzeiteffekt zu sein.

Eine relativ hohe Sterberate kann bei den mit ENU+X behandelten Tieren schon kurz nach der Geburt festgestellt werden. Da aber die Sterblichkeit über 12 Monate hinweg sowohl nach X+ENU als auch nach ENU+X eine schwächere Zunahme hat, fällt die kumulative Mortalitätsrate nach 12 Monaten aber trotzdem an allen drei Gestationstagen teilweise signifikant niedriger als nach den entsprechenden ENU-Einzelbehandlungen aus.

Somit verhindert 1 Gy Röntgenbestrahlung in der Kombination mit ENU, daß dessen Wirkung in vollem Umfang manifest wird. Möglicherweise verschiebt sich nur die Latenzzeit der Todesursache über den 12. Monat hinaus.

Sofern nur die Ergebnisse der kumulativen Mortalitätsraten von X 14, X 15 und X 16 betrachtet werden, überrascht dies, da der Bestrahlung bei der Forcierung der Sterberate keine Wirkung immanent zu sein scheint.

Dieser Effekt der Bestrahlung kann für die Gewichtsentwicklung mit der Kombination X und ENU behandelten Tiere nicht aufgezeigt werden, so daß ein nahezu adaequater Verlauf wie bei den mit ENU behandelten Tieren vorliegt.

5.2. Späteffekte

5.2.1. Späteffekte nach der Bestrahlung

Bei der Auswertung postnataler Langzeiteffekte manifestieren sich nach der Bestrahlung mit 1 Gy nach 12 Monaten nur in den Lungen der am 15. und 16. Gestationstag behandelten Tiere erhöhte Tumorzinzenzen.

Bei einer detaillierteren Untersuchung kann dagegen häufig eine Reduktion der Inzidenz einzelner tumoröser Erkrankungen (Leukosen, Ovarialtumoren nach der Behandlung am 14. Gestationstag, Uterustumoren nach der Behandlung am 15. und 16. Gestationstag) festgestellt werden, so daß die Summe cytolethaler und cancerogener Wirkungen in den einzelnen Organen dieselbe absolute Tumorzinzenz wie bei den Kontrollen bedingt.

Es ist bekannt, daß Dosis-Wirkungsbeziehungen unterhalb von 0,5 Gy Strahlendosis in einen Unschärfebereich eintauchen und für eine kausale Untersuchung einer Strahlencancerogenese schwer faßbar sind (Koner mann 1976).

In der vorliegenden Arbeit ist die cancerogene Wirkung von 1 Gy Strahlendosis evident (Lungentumoren), sei es nur, daß sie einer Förderung prädisponierender Faktoren dient, woraus eine Zunahme der spontanen Krebsinduktion resultiert (Koner mann 1976).

Dieser Umstand erklärt, warum in der Literatur recht widersprüchliche Ergebnisse zur Frage der Strahlencancerogenese im niederen Strahlendosisbereich zu finden sind.

Kusma et al. (1982) bestrahlten weibliche C57BL/6J Mäuse am 15. Gestationstag mit 1 Gy und konnten während des anschließenden Beobachtungszeitraums weder eine Verkürzung der Lebensspanne noch eine signifikant erhöhte Tumorzinzidenz feststellen.

In einem ähnlichen Experiment bestrahlten Brent und Bolden (Sikov 1981) nach 0,5, 7,5, 8,5, 12,5 oder 16,8 Gestationstagen eine große Anzahl weiblicher Mäuse mit 30, 60 oder 90 Röntgen (R). Auch sie berichteten, daß keine erhöhte Inzidenz an Tumoren in der Nachkommenschaft zu entdecken wäre.

Zum selben Ergebnis kamen Rugh et al. (1966), die an CF_1 -Mäusen die Hypothese einer erhöhten Tumorzinzidenz beim adulten Tier nach embryonaler bzw. fetaler Bestrahlung systematisch mit jeweils 100 R an jedem Gestationstag untersuchten.

Upton et al. (1960, 1966) registrierten selbst nach der Behandlung mit 300 R 1 bis 3 Tage vor der Geburt keine Zunahme der Tumorzinzidenz bei RF-Mäusen. Dies bedeutete auch kein vermehrtes Auftreten von myeloischen und T-Zell-Leukämien, worauf die Untersuchung Uptons und seiner Mitarbeiter von 1960 ausgelegt war.

Sasaki et al. (1978) bestätigten dies in einer Untersuchung mit 200 R an den F_1 -Mäuse-Hybriden einer C57BL/6J x WHT-Kreuzung. Nach der Behandlung in der späten Fetalperiode (16. und 18. Gestationstag) war weniger das Auftreten der myeloischen Leukämien als das Auftreten von lymphoretikulären Tumoren (Thymuslymphome, andere Lymphome, Retikulumzellsarkome) reduziert. Noch deutlicher trat dies nach der Bestrahlung am 12. Gestationstag auf.

Ein ähnliches Ergebnis brachte die Auswertung der Leukosen in der vorliegenden Untersuchung.

Nach der Bestrahlung mit 1 Gy am 15. und 16. Gestationstag wird das Auftreten von Leukosen deutlich reduziert. Nach der Bestrahlung am 14. Gestationstag sind überhaupt keine Leukoseerkrankungen zu vermerken.

Eine Erklärung für dieses vom Embryonal- bzw. Fetalalter abhängige Reaktionsmuster der Leukoseinduktion bzw. -reduktion auf die Bestrahlung bietet sich in der Regel von Bergonie und Tribondeau (1906) an, wonach Strahlen umso schwerwiegender auf Zellen einwirken, je höher deren Proliferationsaktivität (Mitoseindex) ist und je weniger sie morphologisch und funktionell fixiert bzw. ausdifferenziert sind.

Für das Bestrahlungsergebnis des 14. Gestationstages kann dies bedeuten, daß eine Prädisposition einzelner Individuen für eine Leukose durch die Bestrahlung eliminiert oder, daß der Verband lymphatischer Zellen durch eine cytoletale Schädigung für eine mögliche leukotische Transformation reduziert wurde.

Somit hat eine Röntgenbestrahlung mit 1 Gy Dosis in der frühen Fetalperiode einen "protektiven" (negativen) Effekt auf die Leukoseinzidenz.

Es ist daher nur folgerichtig, wenn Kaplan (1948) und Upton et al. (1960) erst nach der Strahlenbehandlung von neonatalen bzw. juvenilen Mäusen eine signifikante Zunahme von Thymuslymphomen festgestellt haben.

Wenn nun aber doch durch eine pränatale Bestrahlung bei Beaglehunden myeloproliferative Neoplasmen initiiert werden konnten (Benjamin et al. 1981), so wird damit die These, daß ein bestimmter Differenzierungsgrad der Zellen für eine potentielle Transformation die Voraussetzung ist, nicht verworfen.

Die längere Gestation der Hunde bedingt vielmehr, daß die möglichen zellulären Ansatzpunkte für eine Leukose bei der Geburt ausgereifter sind als bei den Nagetieren (Sikov 1981) und somit das speziesspezifische Phänomen einer Leukose-initiierung ante partum ermöglicht wird.

Daß aber das Lungentumorergebnis im Dosisbereich von 1 Gy nach der Behandlung am 15. und 16. Gestationstag keine Ausnahme darstellt, wird an anderer Stelle (Vesselinovitch et al. 1972, Sasaki et al. 1978) mit 200 R bzw. mit einzelnen oder zahlreichen Dosen von 10 bis 80 R am Ende der Fetalzeit beschrieben. Es konnten ebenfalls vermehrt Lungentumoren induziert werden.

Die Ursache einer Phasenspezifität der Lungentumorcarcinogenese im diaplazentaren Versuch untersuchte Shirley Kauffmann (1976) mit morphometrischen Methoden.

Sie konnte nachweisen, daß am 15. Gestationstag, der in der vorliegenden Untersuchung dem 14. Gestationstag entspricht, der Zellzyklus der Lungenepithelien von Ratten mit 12,2 Stunden sehr kurz ist und an den Gestationstagen 16 bzw. 15 und 17 bzw. 16 der Zellzyklus vor allem zugunsten der G_1 -Phase verlängert wird.

Das Lungentumorergebnis der vorliegenden Arbeit mit signifikanten Inzidenzen nach der Bestrahlung am 15. und 16. Gestationstag unterstreicht, daß gerade in der verlängerten späten G_1 -Phase neben der Mitosephase die größte Empfindlichkeit der Zellen für eine Strahlenexposition mit der möglichen Konsequenz einer Tumorgenese besteht (Hug et al. 1966, Sinclair 1968).

Während in der vorliegenden Untersuchung nach der Bestrahlung am 14. Gestationstag nur eine insignifikante Häufigkeit an Lebertumoren auftritt, werden in der Literatur (Vesselinovitch et al. 1972, Sasaki et al. 1978) bei einem ähnlichen Versuchsaufbau diese Tumorarten sehr viel häufiger konstatiert.

Dagegen zeigt gerade der Vergleich mit der Literatur, daß die Hämangiosarkome nach der Bestrahlung am 14. und 15. Gestationstag ein außergewöhnliches Ergebnis darstellen, nachdem erst mit Dosen von mindestens 10 Gy eine kausale Beziehung zur Hämangiosarkomrate festgestellt werden konnte.

Ob nun die Röntgenbestrahlung die Spontanrate dieses Sarkoms modifiziert hat oder bei diesem Mäusestamm de facto eine besondere Sensibilität für eine cancerogene Transformation der subcutanen Blutgefäßwandzellen besteht, soll später diskutiert werden.

5.2.2. Späteffekte nach der Applikation von ENU

Das cancerogene Potential von ENU wurde meist in Studien an Ratten dargestellt. Fast ausnahmslos treten bei dieser Tierspezies neuroonkogene Tumoren auf.

An Mäusen sind Arbeiten mit ENU zur Untersuchung der transplacentaren bzw. pränatalen Cancerogenese (Rice 1969, Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977) bekannt, die vor allem in extraneuralen Tumoren resultierten.

Dieses extraneurale Tumorspektrum setzte sich regelmäßig aus Lungen- und Lebertumoren zusammen. In der Literatur werden aber auch noch Tumoren der Ovarien, des Nervensystems (Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977), der Hypophyse und Leukämien bzw. Leukosen (Rice 1969, Diwan et al. 1974) in bemerkenswerten Häufigkeiten genannt.

Die maßgeblichen ENU-Arbeiten (Rice 1969, Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977) induzierten diese Tumoren mit 0,5 mmol ENU (60 mg ENU) pro kg Körpergewicht in der Nachkommenschaft gravider Mäuse von verschiedenen Stämmen.

In der vorliegenden Arbeit führen 45 mg ENU pro kg Körpergewicht nach der Applikation an trächtige NMRI-Mäuse zu einem Tumorspektrum, das, außer der Lunge und der Leber, nach der Behandlung am 15. Gestationstag noch das Ovar und, nach der Behandlung an allen 3 Gestationstagen in einem nicht unerheblichen Maße mit 2,0 %, 2,4 % bzw. 2,6 % die subcutanen Blutgefäße an unbehaarten Kopf- und Gliedmaßenanteilen der untersuchten Tiere betrifft.

Die in der Literatur nach der ENU-Behandlung beschriebene Inzidenz an Lungen- und Lebertumoren wurde meist in Abhängig-

keit von der Gestationsphase zum Zeitpunkt der Applikation, vom Geschlecht, vom genetischen Einfluß des verwendeten Mäusestammes und von der eingesetzten ENU-Dosis untersucht.

Modifizierende Faktoren der Tumorexpression wurden auf der zellulären (Goth et al. 1974, Kauffmann 1976, Chang et al. 1981, Craddock et al. 1984, Pegg 1984, Setlow 1984) und auf der Tumorträgerebene (Rice 1973, Vesselinovitch et al. 1973, 1977) diskutiert.

In einer grundlegenden Arbeit zeigte Rice (1969) an GP-Mäusen, daß die Lunge, unabhängig vom Geschlecht, das sensitivste Organ für die pränatale Tumorinduktion durch ENU darstellt.

Neben diesem quantitativen Aspekt, führte er dafür auch die relativ kurze Latenzzeit dieses Tumors an.

Mit einer Inzidenz von bis zu 62,4 % (ENU 14), die in 10,9 % der Fälle schon vor dem 12. Monat auftrat, kann diese übertragende Transformationsrate durch ENU in der Lunge in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

In der Organogenese (vor dem 14. Gestationstag) hatten 1,0 mmol ENU pro kg Körpergewicht eine embryozide Wirkung (Rice 1969).

Für den 16. und für den 18. Gestationstag konnte Rice (1969) eine Dosis-Wirkungsbeziehung aufstellen, welche die Inzidenz und die Multiplizität der Lungentumoren (Lungentumoren pro Maus) und die ENU-Dosen von 0,25 mmol (30 mg), 0,5 mmol (60 mg) und 1,0 mmol (90 mg) pro kg Tiergewicht in einen direkten kausalen Zusammenhang brachte.

Dies impliziert auch für den vorliegenden Versuch, daß mit einer ENU-Dosis von 45 mg pro kg Körpergewicht innerhalb der Behandlungsgruppen ENU 14, 15 und 16 relative Unterschiede der Lungentumorhäufigkeiten zu erwarten sind.

Die Ergebnisse von 62,4 % (ENU 14), 57,7 % (ENU 15) und 56,6 % (ENU 16) bringen dies auch zum Ausdruck.

Doch im Gegensatz zu den angeführten Arbeiten, die an verschiedenen Mäusestämmen diese Untersuchungen anstellten (Rice 1969, Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977), resultiert im vorliegenden Experiment die pränatale ENU-Exposition nicht bei den am 16. Gestationstag behandelten Tieren in einem Maximum an Lungentumoren.

Nachdem die unterschiedlichen Längen der Gestationen bei den einzelnen Mäusestämmen berücksichtigt wurden, definierte Rice (1969) einen Zeitraum von 48 Stunden 5 Tage vor der Geburt als den optimalen Zeitraum für eine maximale Lungentumorinduktion.

So gerechnet erreichen die NMRI-Mäuse bei einer durchschnittlichen Schwangerschaftsdauer von 19 Tagen tatsächlich 5 Tage vor der Geburt, am 14. Gestationstag, mit 62,4 % die höchste Lungentumorinzidenz.

Nicht bestätigt werden kann dagegen die Phasenspezifität der Gestation auf die Multiplizität der Lungentumoren.

Nur 7,3 bis 7,6 Lungentumoren pro Lungentumor-tragendes Tier traten nach der Behandlung mit 45 mg ENU pro kg Körpergewicht in den entsprechenden Behandlungsgruppen auf.

In den zitierten Arbeiten war dagegen die Lungentumormultiplizität nach 60 mg ENU pro kg Tiergewicht eindeutig mit deren phasenspezifischer Inzidenz korreliert (Vesselinovitch et al. 1977).

Außer, daß 60 mg ENU pro kg Tiergewicht zu Lungentumorinzidenzen im Bereich von 80 % bis 90 % führen (Rice 1969, Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977), scheint die größere Lungentumormultiplizität, ebenfalls in Abhängigkeit von der Gestationsphase, ein weiteres wesentliches Merkmal der Differenz von 15 mg ENU zwischen 45 mg und 60 mg ENU zu sein.

Ein erster Schritt zur Erforschung der eng umschriebenen pränatalen Induktionsphase für Lungentumoren war die lineare Regression der Tumormultiplizität auf das Lungengewicht bzw. deren Größe (Vesselinovitch 1973, Nomura 1974).

Darauf baute ein Versuch von Shirley Kauffmann (1976) auf, die die Proliferationskinetik von fetalem Lungengewebe als weiteres Kriterium einer bevorzugten Tumorinduktion untersuchte.

Die Zahl der Lungenadenome war nach der ENU-Applikation an 15 Tage alte Swiss-Mäuse Feten (entspricht in der vorliegenden Arbeit dem 14. Gestationstag) am größten.

Verglichen mit den späten Gestationstagen befanden sich am 15. (bzw. 14.) Gestationstag alle Zellen in einem relativ kurzen Zellzyklus. Da sich schnell teilende Zellen durch sehr kurze G_1 - und G_2 -Phasen charakterisieren (Kauffmann 1968), tritt die S-Phase umso deutlicher in den Vordergrund, so daß die Zelle relativ schnell wieder in diese Zyklusphase eintritt.

Zahlreiche Arbeiten haben nun gezeigt, daß die G_1 -Phase (Chernozemski et al. 1970, Kauffmann 1976) bzw. der Bereich des Übergangs von der G_1 - zur S-Phase (Bertram et al. 1974) besonders sensibel für eine onkogene Transformation durch ein chemisches Agens ist. In diesem Zeitraum laufen bekannterweise zahlreiche, die semikonservative Replikation der S-Phase vorbereitende biochemische Prozesse ab (Lord 1986).

In der Literatur werden nun aber weniger die Angriffspunkte in dieser Zyklusphase für einen onkogenen Prozess diskutiert, als vielmehr die geringe Zeit, die der DNA bei einer Läsion in der G_1 -Phase für die Reparatur vor der Fixation der Transformation in der S-Phase bleibt (Bertram et al. 1974).

Somit sind schnell proliferierende Zellen mit einer kurzen Zyklusinterphase besonders gefährdet, eine Transformation in der anschließenden Zellteilung im genetischen Material der Tochterzellen zu verankern (Kakunga 1975).

Neben der Zellkinetik des Lungengewebes werden im Zusammenhang mit der herausragenden Tumorinduktion um den 16. Gestationstag auch morphologische Veränderungen von einer glandulären zu einer caniculo-alveolären Form diskutiert (Veselinovitch 1973).

Desweiteren ist die späte Ausbildung des Immunsystems in den Feten für die Manifestation eines Tumors von Bedeutung. Nach Rice (1969) kann sich davor das Tumorantigen in einer Phase immunologischer Toleranz etablieren und nach der Ausbildung des Abwehrsystems nicht mehr als Fremdmaterial erkannt werden.

Schließlich kann auch der Gewichtsquotient Placenta-Fetus als Grund für die altersabhängige Cancerogenese angegeben werden. Dieser vergrößert sich im Laufe der Schwangerschaft zugunsten des Feten (Norman et al. 1979), so daß mit zunehmendem Alter der Fetus bei gleichbleibender applizierter Dosis dem nur kurz wirksamen Puls-Carcinogen ENU (Goth et al. 1974) in immer geringeren Dosen ausgesetzt ist.

Dagegen spricht aber eine Arbeit von Rossi et al. (1979), die zwar einen Diskriminierungsfaktor von 10 bis 20 zwischen der ENU-Konzentration des Muttertieres und des Fetus aufgezeigt hat, aber bei Untersuchungen des 12., 15. und 16. Gestationstages doch phasenspezifische Unterschiede der Tumorinduktion mit Lungentumorraten von 42 %, 100 % und 84 % feststellen konnte.

Die Auswertung der Hepatome erbrachte nach der ENU-Behandlung am 14. Gestationstag mit 10,8 % die größte Inzidenz. In den Gruppen ENU 15 und ENU 16 traten mit 5,8 % bzw. 4,6 % signifikant weniger Hepatome auf.

Im Gegensatz dazu stellten zahlreiche andere Arbeiten (Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977) mit fortschreitendem Fetalalter bei der Applikation eine Zunahme der Lebertumorfrequenz fest.

Obwohl eine vom Mäusestamm abhängige Reaktion der Leber auf die ENU-Exposition bekannt ist (Diwan et al. 1974) und auch eine Dosisabhängigkeit konstatiert wurde, kann keine zufriedenstellende Erklärung dieser deutlichen Diskrepanz des Lebertumorergebnisse gegeben werden.

Da die Proliferationskinetik der Zelle (Kauffmann 1976, Chang et al. 1981, Craddock et al. 1984) offensichtlich eine entscheidende Rolle bei der Cancerogenese spielt, ist es naheliegend, das Wachstumsprofil der Leber für die weitere Diskussion von deren Tumorinzidenz zu untersuchen.

Während sich die Lunge in Wachstumsschüben entwickelt, beginnt die Wachstumsrate der Leber ab dem 14,3. bis 14,8., d.h. nach dem 14. Gestationstag, zu sistieren (Goedblood 1980), so daß eine statische Zellpopulation gegeben ist (Vesselinovitch 1973).

Diese erfüllt oben genannte Voraussetzung einer steten Proliferation für die Fixation eines onkogenen Prozesses nicht mehr.

Desweiteren entwickelt die fetale Leber mit fortschreitendem Alter eine zunehmende biochemische Aktivität.

Neben vermehrter Proteinsynthese und Glykogenspeicherung (Peters et al. 1963), ist bei älteren Feten mit vergleichsweise größeren Mengen an Alkylacceptorprotein (AAP) zu rechnen, dem vielfach eine entscheidende Rolle (Goth et al. 1974, Craddock et al. 1984, Pegg 1984, Setlow 1984) bei der Reparatur einer durch ENU eingeleiteten onkogenen Transformation zugeschrieben wird.

Craddock et al. (1984) stellten die vom Leber- und Gehirngewebe der Ratte extrahierte DNA-Menge deren Konzentration an Alkylacceptorprotein gegenüber und berechneten in der Leber sehr viel höhere Anteile dieses S-Methylcysteinproteins bzw. Alkylacceptorproteins bezogen auf die DNA-Menge als im Gehirn.

Da die durch ENU ethylierte und für die Cancerogenese des betreffenden Organs wesentliche Position 6 des Guanins mit dem Alkylacceptorprotein in einem stöchiometrischen Austausch steht, muß folglich die Tumorzinzidenz im Gehirn der Ratte größer als in der Leber sein, was auch zahlreiche Versuche belegen (Druckrey et al. 1966, 1967, 1970).

Proliferationskinetische und biochemische Aspekte unterstreichen also das in der vorgelegten Arbeit gegebene Verteilungsmuster der Hepatome von 10,8 % nach der Behandlung am 14. Gestationstag und 5,8 % bzw. 4,6 % nach der Behandlung am 15. bzw. 16. Gestationstag.

Entscheidend für die Tumorzinzidenz der Leber scheint aber vor allem die eingesetzte ENU-Dosis zu sein.

Der Vergleich mit den Lebertumoreergebnissen der oben zitierten Untersuchungen zeigt, daß mit 45 mg ENU pro kg Körpergewicht der Bereich der Minimaldosis für eine signifikante Tumorinduktion während der Fetalzeit erreicht ist.

Es treten möglicherweise die Einflüsse verschiedenster Reparaturprozesse deutlicher in den Vordergrund, so daß Ergebnisse mit hohen ENU-Dosen nicht mehr auf einen niederen Dosisbereich extrapoliert werden können und daher mehr mit einer organspezifisch "zufälligen" Inzidenz von Tumoren zu rechnen ist.

Daß die Entwicklung eines onkogenen Prozesses nicht nur auf der zellulären Ebene der betroffenen Organe betrachtet werden kann, sondern auch exogene Faktoren einwirken können, wird bei der geschlechtsspezifischen Bewertung der Lebertumoren deutlich.

Die Lebertumorinzidenz ist nach der ENU-Behandlung am 14., 15. und 16. Gestationstag bei den männlichen Tieren sehr viel größer als bei den weiblichen Tieren.

8,4 % männlichen stehen 2,4 % weibliche Tumorträger nach der Behandlung am 14. Gestationstag gegenüber. Am 15. und 16. Gestationstag sind es 5,3 % gegenüber 0,5 % bzw. 4,1 % gegenüber 0,5 % Tumorträgern.

Vesselinovitch et al. (1967) konnten durch die Entfernung der Gonaden weiblicher und männlicher Mäuse einige Wochen nach der Zufuhr des Carcinogens ENU zeigen, daß der geschlechtsspezifische Unterschied der Lebertumorinzidenz kleiner wurde. Er schrieb somit den männlichen Hormonen einen promovierenden, den weiblichen Hormonen einen inhibierenden Effekt auf die Tumorentwicklung in der Leber zu.

Diese Beeinflussung der Tumorprogression wirkt sich auch auf die Latenzzeit der Lebertumoren aus.

Letztgenannter Effekt kann aber in der vorliegenden Untersuchung während der ersten 12 Lebensmonate nicht beobachtet werden. Fast ausnahmslos werden die durch 45 mg ENU pro kg Körpergewicht initiierten Lebertumoren erst bei der Sektion im 12. Lebensmonat diagnostiziert.

Somit stimmen die relativ lange Latenzzeit und die ausgesprochen geschlechtsspezifische Verteilung der transplacentar induzierten Hepatome mit der Hypothese überein, daß mehr die Progression der Tumoren aus latenten neoplastischen Leberzellen als der Transformationsprozeß selbst von den zirkulierenden Sexualhormonen beeinflusst wird (Rice 1969).

Die Induktion von Ovartumoren bei Mäusen ist in Arbeiten zur diaplacentaren Cancerogenese von ENU weit weniger beschrieben (Diwan et al. 1974, Vesselinovitch et al. 1977) als Lungen- und Lebertumoren.

In der vorliegenden Untersuchung traten Ovartumoren nur in der Gruppe ENU 15 mit einer relativ hohen Inzidenz auf (20,0 %).

In allen Gruppen konnte dagegen eine Verkürzung der Latenzzeit auf die Ovartumorexpression festgestellt werden.

Für die Reduktion der Leukoseinzidenz bei den Kontrolltieren von 11,8 % auf 6,4 % (ENU 14), 3,8 % (ENU 15) bzw. 4,1 % (ENU 16) ist eine cytotoxisch bzw. cytoletale Potenz von ENU auf schnell proliferierende Zellen verantwortlich zu machen, die an anderer Stelle (Bosch 1977, Fujiwara 1980, Schmahl 1982) bei Ratten vor allem im Bereich der Wachstumszonen (Ventricularzone) des Telencephalons gezeigt wurde.

Die außerordentliche Strahlensensitivität der lymphatischen Zellen an den Gestationstagen 14, 15 und 16 wurde schon in der Diskussion der Strahlenbehandlung mit der späten Ausdifferenzierung dieser Zellen in Verbindung gebracht.

Kommt es aber doch in wenigen Fällen zu einer Leukoseinduktion, so kann vor allem bei den am 14. Gestationstag behandelten Tieren eine Verkürzung der Latenzzeit beobachtet werden, während nach ENU 16 die Leukosen weiterhin erst bei der Sektion im 12. Monat festgestellt werden.

Der Befund der Adenosis uteri nach der ENU-Behandlung ist gesondert zu behandeln.

Während die bestrahlten Tiere dieselbe Inzidenz an Uterustumoren wie die Kontrollen (19,4 %) haben, kommt es nach der ENU-Behandlung zu einer Reduktion der Adenosis uteri auf 6,3 % (ENU 14), 7,1 % (ENU 15) bzw. 7,7 % (ENU 16).

Somit manifestiert sich eine Läsion auf den Uterus nur selektiv nach der ENU-Behandlung.

Im Gegensatz zum Leukoseergebnis wird ein möglicher Strahleninsult nicht evident.

Die Wirkung von ENU auf die Expression der Adenosis uteri ist folglich "protektiv" bzw. negativ.

Daß für das Auftreten dieser Tumoren bzw. das Fehlen anderer, zum Beispiel des Nervensystems, der Nieren, der Hypophyse, des Magens und der Brustdrüsen, außer dem Einfluß der applizierten ENU-Dosis, dem genetischen Hintergrund auch weitere Faktoren eine Bedeutung haben können, wurde für den Bereich des Nervensystems von Vinoses und Perez-Polo (1980) festgestellt.

Der Gehalt an nerve growth factor (NGF) ist zu einem Großteil für die Induktion von Tumoren durch ENU bei Ratten und Mäusen verantwortlich.

Eine entsprechende Menge dieses Faktors konnte umgekehrt mit der onkogenen Transformation von nervalen Zellen korreliert werden.

Eine Inzidenz von 2,0 % (ENU 14), 2,4 % (ENU 15) und 2,6 % (ENU 16) an Hämangiosarkomen, die fast ausnahmslos vor dem 12. Lebensmonat auftraten, kann in der vorliegenden Arbeit bei der Studie zur pränatalen Cancerogenese mit ENU an Mäusen zum erstenmal beschrieben werden.

Die Literaturübersicht zur Induktion von Angiosarkomen durch Nitroso-Verbindungen und Nitroso-Harnstoff-Verbindungen bei erwachsenen Tieren zeigt aber, daß die in der vorliegenden Untersuchung eingesetzte ENU-Dosis von 45 mg/kg Körpergewicht durchaus in der Größenordnung liegt, um eine sarkomatöse Transformation der Blutgefäßwand in der Subcutis einzuleiten.

In einem Fütterungsversuch mit Nitrosodimethylamin an DDD-Mäusen mit 265-1450 mg Gesamtdosis pro kg Körpergewicht traten bei 2,5 % der behandelten Tiere subcutane Hämangiosarkome auf (Otsuka et al. 1971).

Nachdem Nitrosodimethylamin an denselben Mäusestamm subcutan mit einer Dosis von 7,5-188 mg pro kg Körpergewicht appliziert wurde, war in der Subcutis bei 10 % der Tiere ein Hämangiosarkom festzustellen.

Bei dem Mäusestamm BALB/c konnte dieser Befund nach der subcutanen Applikation von 45-179 mg pro kg Körpergewicht, über einen Zeitraum von 6-23 Wochen verabreicht, nur mit einer Inzidenz von 2,4 % erhoben werden (Otsuka et al. 1971).

Abgesehen davon, daß in der vorliegenden Arbeit die Hämangiosarkome pränatal induziert wurden, scheint bei Vergleich mit den eingesetzten ENU-Mengen und den entsprechenden Applikationsformen doch eine gewisse Sensibilität des NMRI-Mäusestammes für diese cancerogene Transformation vorhanden zu sein.

Geht man von einer Sensibilität der NMRI-Mäuse aus, so ist die Inzidenz der Hämangiosarkome nach der Röntgenbestrahlung mit 1 Gy weniger als eine Modifikation der Spontanrate, als ein weiteres Indiz für diese stammesspezifische Besonderheit zu werten.

5.2.3. Späteffekte nach der Kombinationsbehandlung X+ENU und ENU+X

Die tumorinduzierende Wirkung der X+ENU- bzw. ENU+X-Kombinationsbehandlung wird erst nach einer Latenzzeit bei der Sektion im 12. Monat deutlich.

Insbesondere nach der X+ENU-Sequenz des 14. und 16. Gestationstages treten mehr "tumortragende Tiere" auf und liegt ein vielfältigeres Tumorspektrum (mehr "tumoröse Erkrankungen" pro Tier) vor als nach den entsprechenden Einzelbehandlungen.

Legt man den Ergebnissen dieser Untersuchungsparameter (siehe Tabelle 10 a) das Phillipsche Bewertungsschema (1977) oder den von UNSCEAR (1982) empfohlenen "Interaktionsfaktor" zugrunde, so sind sie in der Regel aber nur als interferierende, subadditive oder additive Effekte zu verzeichnen.

Dies stimmt mit einem Fazit von Streffer et al. (1984) überein, das er nach einer umfassenden Untersuchung verschiedener Kombinationsbehandlungen mit alkylierenden Stoffen gezogen hat.

Eine Ausnahme stellt dagegen der Untersuchungsparameter "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" dar.

Während die entsprechenden Tumorausbeuten in den übrigen Behandlungsgruppen als interferierende Effekte zu bewerten sind, liegt der "Anzahl der Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" nach der X+ENU-Sequenz des 16. Gestationstages ein Synergismus zugrunde.

Gerade das umgekehrte Phänomen tritt nach der ENU+X-Sequenz des 16. Gestationstages auf. Diese Behandlung führt mit durchschnittlich 2,2 Tumoren pro Tier zur geringsten "Anzahl an Tumoren/Gesamtzahl der untersuchten Tiere" aller ENU-Einzel- und Kombinationsbehandlungen.

Dieses in Abhängigkeit von der Sequenz spiegelbildlich umgekehrte Verhalten der Kombinationsbehandlungen X+ENU bzw. ENU+X des 16. Gestationstages kann auch bei den Häufigkeiten einzelner tumoröser Erkrankungen konstatiert werden, so bei den Lebertumoren, Ovarialtumoren, Hämangiosarkomen und bedingt auch bei den Uterustumoren.

Die Lebertumorinzidenz, nicht nur nach X+ENU 16 (13,2 %), sondern auch nach X+ENU 15 (9,6 %), wird zudem noch als Synergismus bewertet.

Dasselbe gilt auch außer der Hämangiosarkomrate nach X+ENU 16 (3,0 %) für die Hämangiosarkomhäufigkeit nach X+ENU 14 (2,9 %).

Das spiegelbildliche Verhalten der beiden Kombinationsbehandlungen des 16. Gestationstages auf die Ovar- und Uterustumorinzidenz äußert sich dagegen in einem subadditiven (X+ENU) und antagonistischen (ENU+X) bzw. in einem interferierenden (X+ENU) und antagonistischen (ENU+X) Effekt.

Um diese Ergebnisse anhand der Literatur zu beleuchten, bieten sich Beispiele zur Kombinationswirkung von Bestrahlung und ENU vor allem bei Ratten an.

Nach den unterschiedlichen Behandlungsmodi X+ENU (Warkany et al. 1976, Kalter et al. 1980, Kriegel et al. 1985) bzw. ENU+X (Knowles 1982, 1984, Schmahl et al. 1985) an graviden (Warkany et al. 1976, Kalter et al. 1980) und neonatalen Ratten, wurde die Inzidenz der Neurocarcinogenität ausgewertet. Allgemein wurde eine Reduktion der Tumorrates festgestellt, die in einem direkten Verhältnis zur Behandlungsdosis stand.

Im Gegensatz zur vorliegenden Kombinationsbehandlung trifft dies sowohl für die X+ENU- als auch für die ENU+X-Sequenz zu. Als Erklärung wird die Induktion eines refraktären Zustandes von ENU-Target-Zellen durch die Bestrahlung angeführt (Kalter et al. 1980) bzw. auch die Destruktion ENU-transformierter Zellen diskutiert (Knowles 1982).

Dieser von Kalter et al. (1980) und Knowles (1982) gemachte Vorschlag würde auch die Inzidenz einzelner Tumoren nach der X+ENU- (zum Beispiel Leukosen und Uterustumoren) bzw. ENU+X-Behandlung (zum Beispiel Lungentumoren und Hämangiosarkome) klären.

Doch die Synergismen nach der X+ENU-Behandlung, vor allem des 16. Gestationstages, zeigen wie eine schon früher von Schmahl et al. (1978) durchgeführte Arbeit; daß dies eine zu einfache (Kalter et al. 1980) und nicht mehr allgemeingültige Lösung wäre.

Schmahl et al. (1978) verzeichneten nämlich bei NMRI-Mäusen nach einer Bestrahlung mit je 1 Gy an den Gestationstagen 11 bis 13 und einer anschließenden Gabe von 60 mg ENU pro kg Körpergewicht am 17. Gestationstag eine signifikante Zunahme der Leukämie- und Ovarialtumorinzidenz im Vergleich zu den entsprechenden Einzelbehandlungen.

Außer einer offensichtlichen Reduktion der Zellpopulation, die das Target für ENU darstellt, muß auch eine Modifikation von deren Verhalten angenommen werden (Kalter et al. 1980).

Organspezifisch unterschiedliche Veränderungen der Latenzzeit, entweder Verkürzungen (Leukosen) oder auch Verlängerungen (Lungentumoren) durch die Kombinationsbehandlungen, sind dafür ein weiteres Indiz.

In Arbeiten mit dem hoch CNS-spezifischen Teratogen 5-Azacytidin (Seifertova et al. 1968, Schmahl 1979) wurde das Verhalten der Zelle in der Kombinationsbehandlung mit Röntgenstrahlen näher analysiert und die reduzierte Potenz dieses chemischen Agens nun nicht mehr pauschal mit der Destruktion von Target-Zellen umschrieben.

Die verminderte Sensitivität von fetalen corticalen Zellen auf Azacytidin nach 2 Gy wurde explizit mit einer Interaktion von X und Azacytidin bzw. Azacytidin und X mit bestimmten Zellzyklusphasen erläutert.

Nachdem Azacytidin in der S-Phase (Li et al. 1970) mit der Zielzelle agiert, wird deren Schädigung aber erst während der Stagnation in der unvollständig durchgeführten Mitose manifest (Seiferova et al. 1973).

Eine im Abstand von 2 Stunden verabfolgte Bestrahlung erhöht diesen Schädigungsgrad durch eine in dieser Phase besonders herausragende Strahlensensibilität (Sinclair 1968, Tolmach et al. 1971).

Eine völlig andere Situation ergab sich nach der X+Azacytidin-Kombination, die schließlich zu einer geringeren Zellläsion führte.

Die Bestrahlung schädigt die Zelle in der späten G₁-Phase (Tolmach et al. 1971). Somit wird die Zahl der Zellen vermindert, die in die anschließende Azacytidin-sensitive S-Phase eintreten können.

Diese Reaktionsfolge an der Zelle resultierte wiederum in einer geringeren teratogenen Schädigung als nach der Einzelbehandlung mit Acacytidin, so daß in Kombination mit der Bestrahlung ein reduziertes Reaktionsvermögen dieses Teratogens zu erwarten ist.

5.3. Beispiele und Mechanismen synergistischer Effekte für die Kombinationssequenz X+ENU

Nachdem im Bereich der Kombinationsbehandlung X+ENU bzw. ENU+X eine signifikante Zunahme (Schmahl et al. 1978) bzw. ein Synergismus hinsichtlich der Tumorrates nur vereinzelt unter bestimmten Versuchsbedingungen festgestellt werden konnte, sollen nun im folgenden Formen synergistischer Wirkungen an Beispielen der Kombinationsbehandlung von Bestrahlung und Urethan dargestellt und näher ausgeführt werden.

Urethan (Ethylcarbamat) induziert als schwaches Carcinogen bei Mäusen insbesondere Leukämien, Lymphome und Lungentumoren (Myers 1976).

Durch die Kombination X+Urethan war schon die Steigerung der Tumorzinzidenz demonstriert worden (Kawamoto et al. 1958), als Berenblum und Trainin (1960) vor dem Hintergrund des zweistufigen Carcinogenese-Modells nach der Initiation durch die Bestrahlung die Bedeutung des Urethans als Promotor auf die Leukämierate der Mäuse herausstellten.

Ein anderer Versuch führte nach einer per se nicht carcinogenen Bestrahlung von Feten mit 0,36 Gy und einer postnatalen Behandlung mit 5 mmol Urethan pro kg Körpergewicht zu einer erhöhten Lungentumorzinzidenz (Nomura 1984).

Dies wurde auf eine durch die Bestrahlung induzierte persistierende Hypersensitivität der Zelle auf die Urethanbehandlung zurückgeführt.

Somit resultiert auch in diesem Falle die erhöhte Tumorzinzidenz aus der engen Kopplung von Bestrahlung und nachfolgender Urethanbehandlung im Sinne einer Initiation und Promotion.

Cole und Foley (1969) untersuchten den Einfluß der Strahledosis auf die Lungentumorzinzidenz bei der Kombinationsbehandlung mit Urethan und gingen dabei von der Überlegung aus, daß das Ergebnis der Lungentumorgenese aus 2 unabhängigen Dosis-Wirkungskurven,

a) Strahlendosis - Krebsinduktion,

b) Strahlendosis - cytoletale Effekte auf proliferierende Zellen

resultieren müßte.

Sie stellten, wie Nomura (1984) fest, daß bei niedriger Bestrahlungsdosis der Effekt der Resultanten "Krebsinduktion" dominiert und somit eine Bestrahlung mit niedrigerer Dosis die eigentliche Gefahr für eine zwei- oder mehrstufige Carcinogenese birgt.

Neben der Abhängigkeit der Tumorinzidenz von der Dosis der Bestrahlung, wurden auch noch Modifikationen durch das Alter der Tiere vom Zeitpunkt der Behandlung als auch durch den Intervall der Behandlungssequenz festgestellt (Vesselinovitch et al. 1966, 1972).

Vesselinovitch et al. (1972) faßten die Studien zur Wirkung von ionisierenden Strahlen und Urethan so zusammen, daß ein Synergismus möglich sei, dieser sich aber eng an definierte experimentelle Bedingungen knüpfe (Streffler et al. 1984).

Aus den soeben beschriebenen Beispielen und dem Lungentumorergebnis der vorliegenden Arbeit kann für die weitere Diskussion der synergistischen Effekte gefolgert werden, daß 1 Gy Bestrahlung durchaus einen cancerogenen Prozeß initiieren kann.

Für die Fixation einer Mutation (Chu et al. 1968, Bridges et al. 1970) oder einer malignen Veränderung (Borek et al. 1967, Chen et al. 1969), ist aber mindestens ein Zellzyklus vor Einleitung eines Reparaturprozesses (Kennedy et al. 1978) notwendig.

Während Urethan in der Funktion eines Promoters diese Aufgabe erfüllt und damit in der Kombinationsbehandlung mit der Bestrahlung zu einem Synergismus führt, ist dies bei FNU nicht gegeben.

ENU entspricht nicht einem Promotor, sondern ist vielmehr selbst als Initiator eines cancerogenen Prozesses in einem Zweistufensystem definiert (Agýris 1982, Streffer et al. 1984).

Als Erklärung für die Synergismen nach der X+ENU-Kombinationsbehandlung soll im folgenden die Kinetik der Zelle näher untersucht werden.

Für die 4 Stadien des Zellzyklus (Howard et al. 1953) konnten Sinclair (1968) und Tolmach et al. (1971) in in-vitro-Versuchen unterschiedliche Sensitivitäten auf die Bestrahlung feststellen.

Folgende Einteilung leitet sich daraus ab:

Zellen mit einer kurzen G_1 -Phase sind in der Mitose und G_2 -Phase am strahlenempfindlichsten, weniger in der G_1 - und noch weniger während der S-Phase.

Zellen mit einer langen G_1 -Phase sind zudem noch in der späten G_1 -Phase strahlenempfindlich.

Ein in vivo-Versuch von Schmahl (1982) unterstrich nach pränataler Bestrahlung von NMRI-Mäusen mit 0,95 Gy an Neuroblasten des Telencephalons die oben beschriebene Einteilung nach dem Grad der Strahlensensibilität.

Daneben wurden aber auch eine Verzögerung (Sinclair 1968, König et al. 1980) bzw. eine vorübergehende Blockierung der Zellzyklusprogression beschrieben (Okada 1970).

Nach Okada (1970) setzt sich diese aus einer Zellzyklusblockade in der späten G_2 -Phase und einer verlangsamten Passagerate durch die S-Phase zusammen.

Die Ursache der vorübergehenden Blockade ist unbekannt, doch wird diskutiert, daß die prämitotische Kondensation des Chromatins durch X beeinträchtigt wird, daß die Reparatur von Chromosomenbrüchen einen verzögernden Einfluß hat, oder, daß die Synthese von Proteinen, welche für die Mitose benötigt werden, reduziert ist (Tolmach et al. 1971). Die prolongierte Passage durch die S-Phase wird mit einer eingeschränkten DNA-Synthese begründet (Tolmach et al. 1971).

Daraus resultiert eine Akkumulation relativ vieler Zellen am G_2 -M-Übergang, die nach einer von der Größe der Strahlendosis abhängigen Verzögerung gleichzeitig in die Mitosephase eintreten und zu einem hohen Mitoseindex führen (Denekamp 1986).

Für langsam proliferierende Zellen stellten Nagasawa et al. (1984) eine größere strahleninduzierte Zellzyklusverzögerung am G_1 -S- als auch am G_2 -M-Übergang fest.

Durch die Mitose-Verzögerung wird die Synchronizität der wieder in den Zellzyklus startenden Zellen gefördert, in dem Zellen in den strahlensensiblen Zyklusphasen G_2 und M in ihrer Passage behindert werden, Zellen in den strahlenresistenteren Zyklusphasen G_1 und S sich dagegen weiterentwickeln können.

Die Folge ist eine relativ gleichphasig geschaltete Zellpopulation.

Diese synchronisierten Zellen durchlaufen vor allem, wenn sie wie die fetalen Zellen noch wenig ausgereift sind, sehr schnell die folgende, organspezifisch außerordentlich variable (Sinclair 1968) G_1 -Phase, um den Zellverlust innerhalb der Population zu kompensieren (Schmahl 1983), bevor sie in die den DNA-Schaden fixierende S-Phase treten (Plant et al. 1971).

Nach der Bestrahlung mit 1 Gy kann nicht angenommen werden, daß die synchronisierten Zellen einer Population nach 4 Stunden schon wieder auf die verschiedenen Zyklusstadien verteilt sind (Denekamp 1986), sondern relativ gleichzeitig in den ENU-sensitiven G_1 -S-Übergangsbereich kommen.

Erfolgt nun zu diesem Zeitpunkt eine ENU-Behandlung, so scheint unter Abfolge obengenannter Reaktionsschritte ein synergistischer Effekt der Kombinationsbehandlung X+ENU durchaus plausibel, der zu einer größeren cancerogenen Transformationsrate als die ENU-Einzelbehandlung führt.

Der Proliferations- bzw. Differenzierungsgrad der Zellpopulationen des 16. Gestationstages scheint offensichtlich mehr als der des 14. und 15. Gestationstages vor allem im Hinblick

auf die Länge der G_1 -Phase die zellkinetischen Voraussetzungen zu erfüllen, mittels dieser Reaktionsschritte zu einem Synergismus nach der X+ENU-Behandlung zu führen.

5.4. Beispiele und Mechanismen synergistischer Effekte nach der Kombinationssequenz ENU+X

Betrachtet man die ENU+X-Behandlungen hinsichtlich der "Tumorträgerinzidenzen", der "tumorösen Erkrankungen" und der "Lungentumoren", so sind die Ergebnisse der Behandlungsgruppen vom 15. und 16. Gestationstages denen der ENU-Einzelbehandlungen nahezu identisch.

Dagegen hat die Bestrahlung in der ENU+X-Kombination vom 14. Gestationstag mit einer insignifikanten Zunahme des Ergebnisses jeweils einen positiven Effekt.

Die "Anzahl der Tumoren" fällt bei gleichbleibendem Profil mit der höchsten Inzidenz nach der Behandlung am 14. und der niedrigsten nach der Behandlung am 16. Gestationstag nach ENU+X aber deutlich geringer als nach ENU aus.

Die Adenosis uteri tritt nach der ENU+X-Behandlung an allen drei Gestationstagen mit einer niedrigeren Inzidenz als nach den entsprechenden Einzelbehandlungen auf, so daß ein antagonistischer Effekt vorliegt.

Dieses Ergebnis überrascht, da die X-Einzelbehandlung auf die Inzidenz der Adenosis uteri keine Wirkung zeigt.

Im engen Gefüge einer Kombinationsbehandlung kann sie aber die durch ENU eingeleitete Läsion verstärken.

Daß aber die Kombination ENU+X auch im umgekehrten "positiven" Sinne wirken kann, zeigt das Ergebnis der Lebertumoren nach der Behandlung am 15. und 16. Gestationstag.

Die Kombination ENU+X führt an beiden Tagen zu einer höheren Lebertumorinzidenz als die Summe der X- und ENU-Einzelbehandlungen erwarten läßt.

Somit liegt bei diesem Organ ein synergistischer Effekt vor.

Obwohl 1 Gy Röntgenbestrahlung in der Einzelbehandlung meist keine Wirkung zeigt, können in der Kombination mit ENU einerseits cytoletale Effekte (siehe Uterustumoren), andererseits aber auch Verstärkungen der onkogenen Transformationsraten (siehe Lebertumoren) beobachtet werden.

Neben dieser Organspezifität können bei den Untersuchungsparametern "Tumorträgerinzidenz" und "tumoröse Erkrankungen" auch phasenspezifische Unterschiede der einzelnen Gestationstage nach der ENU+X-Kombination festgestellt werden.

Während nach ENU+X vom 14. Gestationstag die Dosis 1 Gy Röntgenbestrahlung die cancerogene Wirkung von ENU verstärkt, hat sie bei der Behandlung vom 15. Gestationstag einen cytoletalen Effekt, indem sie die Wirkung von ENU supprimiert.

Die synergistischen Effekte von ENU+X auf die Lebertumorinzidenz und der "negative" Synergismus hinsichtlich der Uterustumorinzidenz (Antagonismus) sollen nun im folgenden differenzierter diskutiert werden.

Obwohl ENU in vivo eine Halbwertszeit von nur 5-6 Minuten (Swann et al. 1971) hat und dadurch eine cancerogene Transformation der DNA schon innerhalb kürzester Zeit erfolgt sein muß (Knowles 1982), scheinen auch in bestimmten Zellen Läsionen induzierbar zu sein, die nach 4 Stunden noch nicht soweit fixiert sind, als daß sie nicht mehr durch 1 Gy Röntgenbestrahlung modifiziert werden könnten.

Geht man bei schnell proliferierenden Säugetierzellen von einer 3-stündigen Dauer des radiosensitiven G_2 -M-Bereiches (Sinclair 1968) aus, so betrifft dies Zellen, die in der 2. Hälfte der ungefähr 6 Stunden dauernden S-Phase mit ENU behandelt worden sind.

Es kann dies aber auch Zellen betreffen, die in der G_2 -Phase mit ENU exponiert wurden.

Dies erklärt sich mit einer weiteren Wirkungseigenschaft von ENU.

Bosch (1977) und Fujiwara (1980) behandelten neonatale bzw. fetale Ratten mit ENU und stellten in den Nervenzellen nicht nur cytotoxische Effekte, sondern auch eine Behinderung der Zellteilung fest.

Bedingt ENU eine, wie Fujiwara (1980) vermutet, Störung in der G_2 -Phase, so würde es, wie auch das Beispiel der Kombination Azacytidin+X in Arbeiten von Schmahl (1979, 1983) zeigt, erst nach der Bestrahlung mit 1 Gy 4 Stunden später zur endgültig definierten Läsion in dieser für schnell proliferierende Zellen typischen radiosensitiven Zyklusphase kommen.

Die Ergebnisse der Lebertumorinzidenz und der Adenosis uteri nach der ENU+X-Behandlung belegen, daß diese Reaktionsmechanismen durchaus möglich sind.

1 Gy Röntgenbestrahlung hat auf beide Organe weder einen supprimierenden noch induzierenden Effekt hinsichtlich der Tumorzinzidenz.

In der Sequenz ENU+X prägt sich dagegen eine synergistisch-carcinogene bzw. cytoletale Wirkung aus.

Eine Lösung, die diese entgegengesetzten Effekte erklärt, bietet die Überlegung von Leenhouts und Chadwick (1978), die dem DNA-Doppelstrangbruch die Schlüsselrolle für den Zelltod, die chromosomalen Aberrationen, die Mutationen und die maligne Entartung zuschreibt.

Einzelstrangbrüche des chemischen Agens ENU und der niederdosierten Röntgenbestrahlung von 1 Gy können sich zu einem Doppelstrangbruch mit der Konsequenz eines "positiven" bzw. "negativen" Synergismus aufaddieren, sofern sie nicht innerhalb des 4 Stunden-Behandlungsintervalls repariert werden.

Letztlich kann dies aber nur als eine Möglichkeit eingestuft werden, das Ergebnis der ENU+X-Kombinationsbehandlung zu diskutieren.

Wie bei der X+ENU-Sequenz wurde auch bei der ENU-X-Sequenz die Behandlung vor allem auf zellulärer Ebene unter Berücksichtigung der Proliferationskinetik des entsprechenden Targets diskutiert.

Da diese als eine Reaktion auf das auf die Zelle einwirkende Agens zu verstehen ist, sind darin auch zelluläre Mechanismen wie die DNA-Reparatur integriert, der im niederen Strahldosisbereich ein bedeutender Einfluß auf die Dosis-Effekt-Kurve zugeschrieben wird (Streffer et al. 1984, Watanabe et al. 1984).

Andere Autoren schreiben gerade dem "Repair System" die eigentliche Entscheidung über Resistenz und Empfindlichkeit von Zellen gegenüber der Strahlenwirkung zu (Fritz-Niggli 1968).

Dessen Tauglichkeit wird vom Energiehaushalt der Zellen, der wiederum im Zusammenhang mit deren Ausdifferenzierung zu sehen ist, abhängig gemacht.

Es bildet gleichzeitig neben der DNA ein weiteres Angriffsziel für eine Strahlenläsion (Fritz-Niggli 1968).

Da aber zweifelsohne primär das Genom oder die nukleare DNA das Ziel eines Strahlendefektes darstellen (Streffer et al. 1984), die onkogene Bedeutung von ENU vor allem in der Ethylierung des Guanins in der Position 6 liegt (Craddock et al. 1984, Pegg 1984, Setlow 1984), erschien es notwendig, die Ergebnisse der Kombinationsbehandlungen in erster Linie auf zellulärer Ebene zu diskutieren.

Sekundäre Faktoren wie Hormonstatus, immunsuppressive Wirkung von X und ENU usw. sollten nur am Rande erwähnt werden.

5.5. Synopsis

Festzuhalten bleibt, daß nicht für alle Untersuchungsparameter nur interferierende, subadditive bzw. additive Effekte gelten und somit das absolute Tumorrisiko maximal die Summe der Einzelrisiken der kombinierten Agentien darstellt (Streffer et al. 1984).

Die vorliegende Wirkung zeigt vielmehr deutlich, daß die X+ENU-Kombination des 16. Gestationstages auf die "Anzahl der Tumoren" synergistisch wirken kann.

Auch das relative Tumorrisiko, das heißt die Inzidenz einzelner tumoröser Erkrankungen wurde nach der Kombinationsbehandlung erhöht.

X+ENU und ENU+X wirken sowohl nach der Behandlung am 15. als auch nach der Behandlung am 16. Gestationstages auf die Lebertumorinzidenz synergistisch.

Dasselbe gilt für das Ergebnis der Hämangiosarkomrate nach der X+ENU-Behandlung des 14. bzw. 16. Gestationstages.

Tabelle 1: Entwicklungsdaten zum Geburtszeitpunkt

	Anzahl der lebenden Jungtiere	Anzahl der Totgeburten	Mittlere Wurf- größen	Mittlere Geburts- gewichte (g)
Kontrollen	249	3	$12,0 \pm 2,8$	$1,61 \pm 0,07$
X 14	217	1	$12,8 \pm 2,5$	$1,45 \pm 0,12$
ENU 14	290	1	$11,2 \pm 3,5$	$1,46 \pm 0,15$
X + ENU 14	271	2	$13,0 \pm 2,1$	$1,37 \pm 0,09$
ENU + X 14	205	4	$11,6 \pm 3,1$	$1,36 \pm 0,11$

Tabelle 1: (Fortsetzung)

	Anzahl der lebenden Jungtiere	Anzahl der Totgeburten	Mittlere Wurf- Größen	Mittlere Geburts- gewichte (g)
X 15	191	-	$12,7 \pm 2,4$	$1,48 \pm 0,09$
ENU 15	231	1	$12,2 \pm 2,7$	$1,49 \pm 0,10$
X + ENU 15	213	14	$11,4 \pm 2,6$	$1,40 \pm 0,13$
ENU + X 15	284	4	$13,7 \pm 2,1$	$1,43 \pm 0,10$
X 16	194	1	$11,5 \pm 3,0$	$1,51 \pm 0,11$
ENU 16	229	5	$12,3 \pm 2,5$	$1,46 \pm 0,11$
X + ENU 16	196	-	$12,3 \pm 2,0$	$1,42 \pm 0,10$
ENU + X 16	221	2	$11,7 \pm 2,2$	$1,47 \pm 0,05$

± = Standardfehler des Mittelwertes

Tabelle 2: Mortalitätsrate von behandelten Tieren und Kontrollen

	Anzahl der lebenden Jungtiere	Kumulative Mortalitätsrate (%) nach					
		1 Wo	4 Wo	3 Mo	6 Mo	9 Mo	12 Mo
Kontrollen	249	14,1	15,3	15,7	16,1	16,9	19,3
X 14	217	12,0	14,3	14,3	14,3	16,1	19,4
ENU 14	290	9,0	11,0	14,8	21,4	31,7	51,4
X + ENU 14	271	8,9	11,8	12,2	17,3	24,7	39,5
ENU + X 14	205	8,3	13,7	16,6	24,4	28,8	42,4

Tabelle 2: (Fortsetzung)

	Anzahl der lebenden Jungtiere	Kumulative Mortalitätsrate (%) nach					
		1 Mo	4 Mo	3 Mo	6 Mo	9 Mo	12 Mo
X 15	191	11,0	14,1	14,7	-	16,2	17,8
ENU 15	231	7,4	9,5	10,8	14,7	22,5	51,9
X + ENU 15	213	6,1	11,3	13,6	25,8	31,5	50,2
ENU + X 15	284	20,8	25,4	25,7	31,0	35,9	42,3
X 16	194	10,3	11,3	11,3	11,9	12,9	12,9
ENU 16	229	10,9	14,4	15,7	20,5	25,3	55,0
X + ENU 16	196	9,2	15,3	16,8	26,0	32,0	44,4
ENU + X 16	221	13,1	17,6	21,3	25,8	31,7	47,1

Tabelle 3: Gewichtszunahme von behandelten Tieren und Kontrollen

	Mittlere Geburte- gewichte (g)	Mittlere Tiergewichte (g) nach									
		1. Mo	2. Mo	3. Mo	4. Mo	3. Mo	6. Mo	9. Mo	12. Mo		
Kontrollen	1,61±0,07	4,70±0,59	7,79±1,080	12,11±1,5	19,0±1,9	36,1±2,1	41,4±2,9	43,9±3,8	45,2±4,2		
X 14	1,45±0,12	4,05±0,56	6,23±1,226	9,8±1,8	15,4±2,2	32,4±1,6	37,3±2,2	39,0±2,6	39,3±2,5		
ENU 14	1,46±0,15	4,13±0,53	7,15±1,334	11,4±1,9	17,9±2,3	33,6±1,8	36,3±2,7	36,4±3,1	34,9±3,2		
X + ENU 14	1,37±0,09	3,75±0,38	6,11±0,697	9,7±1,3	15,1±1,9	30,2±2,0	33,2±2,4	33,7±2,1	32,8±2,8		
ENU + X 14	1,36±0,11	4,02±0,52	6,65±1,053	10,4±1,6	17,4±2,4	31,0±2,5	33,8±3,1	34,6±3,1	33,7±4,4		

Tabelle 3: (Fortsetzung)

	Mittlere Geburts- gewichte (g)	Mittlere Tiergewichte (g) nach							
		1. Wo	2. Wo	3. Wo	4. Wo	3. Mo	6. Mo	9. Mo	12. Mo
X 15	1,48 $\pm$ 0,09	4,04 $\pm$ 0,59	6,28 $\pm$ 1,15	10,0 $\pm$ 2,0	16,0 $\pm$ 2,7	32,9 $\pm$ 1,8	37,1 $\pm$ 2,5	39,0 $\pm$ 3,1	40,1 $\pm$ 3,1
ENU 15	1,49 $\pm$ 0,10	4,31 $\pm$ 0,59	6,80 $\pm$ 1,42	11,4 $\pm$ 2,0	18,0 $\pm$ 2,4	32,8 $\pm$ 2,0	36,5 $\pm$ 2,7	34,9 $\pm$ 2,7	32,6 $\pm$ 2,7
X + ENU 15	1,40 $\pm$ 0,13	4,28 $\pm$ 0,83	6,97 $\pm$ 1,78	10,7 $\pm$ 2,2	17,4 $\pm$ 2,5	30,8 $\pm$ 2,0	34,0 $\pm$ 2,2	33,6 $\pm$ 2,2	31,1 $\pm$ 2,9
ENU + X 15	1,43 $\pm$ 0,10	4,13 $\pm$ 0,59	6,81 $\pm$ 0,86	10,7 $\pm$ 1,2	16,6 $\pm$ 1,5	32,5 $\pm$ 1,6	36,6 $\pm$ 2,1	36,7 $\pm$ 2,1	35,6 $\pm$ 2,6
X 16	1,51 $\pm$ 0,11	4,47 $\pm$ 0,79	7,59 $\pm$ 2,16	12,3 $\pm$ 2,4	19,4 $\pm$ 2,6	33,8 $\pm$ 3,1	40,0 $\pm$ 4,5	41,8 $\pm$ 4,0	42,9 $\pm$ 4,0
ENU 16	1,46 $\pm$ 0,11	4,24 $\pm$ 0,66	6,77 $\pm$ 1,35	10,4 $\pm$ 2,2	16,9 $\pm$ 2,8	33,9 $\pm$ 2,4	37,2 $\pm$ 3,6	34,8 $\pm$ 3,6	31,9 $\pm$ 3,0
X + ENU 16	1,42 $\pm$ 0,10	4,04 $\pm$ 0,33	6,46 $\pm$ 0,77	10,0 $\pm$ 1,1	16,4 $\pm$ 1,9	31,9 $\pm$ 1,5	35,2 $\pm$ 2,0	35,9 $\pm$ 2,8	33,7 $\pm$ 3,1
ENU + X 16	1,47 $\pm$ 0,05	4,64 $\pm$ 0,14	7,35 $\pm$ 0,87	10,8 $\pm$ 1,5	17,8 $\pm$ 2,1	33,2 $\pm$ 2,0	37,1 $\pm$ 3,0	36,9 $\pm$ 3,4	35,0 $\pm$ 4,6

± = Standardfehler des Mittelwertes

Tabelle 4: Übersicht über die Anzahl der untersuchten Tiere

	Verluste an nicht pathologisch untersuchten Tieren	insgesamt	Pathologisch untersuchte Tiere	
			bis zum 12. Lebensmonat	bei Sektion im 12. Lebensmonat
Kontrollen	15,4 %	108♂ + 103♀	7♂ + 4♀ (5%)	101♂ + 99♀ (95%)
X 14	14,3 %	94♂ + 92♀	11♂ + 0♀ (6%)	83♂ + 92♀ (94 %)
ENU 14	13,8 %	139♂ + 111♀	58♂ + 51♀ (44%)	81♂ + 60♀ (56%)
X + ENU 14	12,2 %	123♂ + 115♀	37♂ + 37♀ (31%)	86♂ + 78♀ (69%)
ENU + X 14	16,1 %	95♂ + 77♀	30♂ + 24♀ (31%)	65♂ + 53♀ (69%)
X 15	14,1 %	83♂ + 81♀	3♂ + 4♀ (4%)	80♂ + 77♀ (96%)
ENU 15	10,0 %	123♂ + 85♀	51♂ + 46♀ (47%)	72♂ + 39♀ (53%)
X + ENU 15	11,7 %	88♂ + 100♀	39♂ + 43♀ (44%)	49♂ + 57♀ (56%)
ENU + X 15	25,0 %	113♂ + 100♀	33♂ + 28♀ (29%)	80♂ + 72♀ (71%)

Tabelle 4: (Fortsetzung)

	Verlustrate an nicht pathologisch untersuchten Tieren	Pathologisch untersuchte Tiere		
		Insgesamt	bis zum 12. Lebensmonat	bei Sektion im 12. Lebensmonat
X 16	11,3 %	70♂ + 102♀	0 + 3♀ (2%)	70♂ + 99♀ (98%)
ENU 16	14,4 %	105♂ + 91♀	39♂ + 53♀ (47%)	66♂ + 38♀ (53%)
X + ENU 16	14,8 %	98♂ + 69♀	33♂ + 25♀ (35%)	65♂ + 44♀ (65%)
ENU + X 16	16,7 %	89♂ + 95♀	31♂ + 32♀ (34%)	58♂ + 63♀ (66%)

Tabelle 5: Tumorfrequenzen in den einzelnen Versuchsgruppen

	Tumortragende Tiere/ Gesamtzahl der unters. Tiere (%)	Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl der unters. Tiere	Tumöröse Erkrankungen/ Gesamtzahl der unters. Tiere	Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl d. tumortrag. Tiere	Tumöröse Erkrankungen/ Gesamtzahl d. tumortrag. Tiere	Anzahl der Lungentumoren/ Gesamtzahl d. tumortrag. Tiere
Kontrollen	28,0	0,40	0,36	1,46	1,27	1,0
X 14	23,1	0,24	0,24	1,02	1,02	1,0
X 15	27,4	0,27	0,27	1,00	1,00	1,0
X 16	22,7	0,28	0,28	1,26	1,26	1,0
ENU 14	64,4	5,0	0,92	7,75	1,43	7,3
ENU 15	58,2	4,7	0,82	8,05	1,41	7,6
ENU 16	56,6	4,4	0,76	7,73	1,33	7,4

Tabelle 5: (Fortsetzung)

	Tumortragende Tiere/ Gesamtzahl der unters. Tiere (%)	Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl der unters. Tiere	Tumoröse Erkrankungen/ Gesamtzahl der unters. Tiere	Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl d. tumortrag. Tiere	Tumoröse Erkrankungen/ Gesamtzahl d. tumortrag. Tiere	Anzahl der Lungentumoren/ Gesamtzahl Lungentumor- tragendes Tier
X+ENU 14	73,5	3,0	0,97	4,13	1,32	3,8
X+ENU 15	61,2	4,4	0,83	7,20	1,36	6,8
X+ENU 16	67,7	5,7	1,04	8,40	1,53	7,9
ENU+X 14	70,9	3,1	0,95	4,34	1,34	4,0
ENU+X 15	54,5	2,3 ¹	0,79	4,22 ¹	1,46	4,0 ¹
ENU+X 16	51,1	2,2 ²	0,70	4,36 ²	1,38	4,0 ²

¹ Annahme: 4 Lungentumore pro Lungentumor tragendes Tier

² Annahme: 4 Lungentumore pro Lungentumor tragendes Tier

Tabelle 6: Verteilung der tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen
a) Gesamtergebnis (%)¹

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
Kontrollen	11,8	5,2	0	9,7	19,4	0	3,8
X 14	0	8,6	1,18	7,6	19,6	0,58	0
X 15	0,68	12,2	0	9,9	17,3	0,68	0,68
X 16	1,78	11,0	0	9,8	16,7	0	0
ENU 14	6,4	62,4	10,8	9,9	6,3	2,0	3,2
ENU 15	3,8	57,7	5,8	20,0	7,1	2,4	0,98
ENU 16	4,1	56,6	4,6	6,6	7,7	2,6	5,48

Tabelle 6 a: (Fortsetzung)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar- ² tumoren	Uterus- ² tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
X + ENU 14	2,9	71,0	10,1	9,6	5,2	2,9	5,58
X + ENU 15	2,7	59,6	9,6	14,0	2,0	2,1	0,58
X + ENU 16	2,4	65,3	13,2	14,5	13,0	3,08	3,6
ENU + X 14	4,1	70,3	10,5	10,4	3,9	1,7	2,4
ENU + X 15	2,8	52,6	11,7	10,0	5,0	2,38	1,48
ENU + X 16	5,4	53,3	4,9	5,3	3,6	1,1	1,18

- 1 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (%)
- 2 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten weiblichen Tiere (%)

Tabelle 6: (Fortsetzung)
b) Gesamtergebnis in (X)♂ und (X)♀¹ aufgetrennt

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
Kontrollen	5,2♂/6,6♀	1,9♂/3,3♀	0	9,7	19,4	0	2,4♂/1,4♀
X 14	0	4,8♂/3,8♀	1,1♀	7,6	19,6	0,5♂	0
X 15	0,6♂	6,7♂/5,5♀	0	9,9	17,3	0,6♂	0,6♀
X 16	1,7♀	5,2♂/5,8♀	0	9,8	16,7	0	0
ENU 14	4,4♂/2,0♀	34,8♂/27,6♀	8,4♂/2,4♀	9,9	6,3	1,6♂/0,4♀	1,6♀/1,6♀
ENU 15	2,0♂/1,0♀	36,5♂/21,2♀	5,3♂/0,5♀	20,0	7,1	1,9♂/0,5♀	0,9♀
ENU 16	1,0♂/3,1♀	32,1♂/24,5♀	4,1♂/0,5♀	6,6	7,7	0,5♂/2,0♀	5,4♀

Tabelle 6 b: (Fortsetzung)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hämangio- sarcome	sonstige Tumoren
X + ENU 14	2,14/0,88	37,04/34,08	8,44/1,78	9,6	5,2	2,14/0,88	1,74/1,38
X + ENU 15	1,64/1,18	28,24/31,48	8,54/1,18	14,0	2,0	1,64/0,58	0,54
X + ENU 16	1,24/1,28	37,74/27,58	12,04/1,28	14,5	13,0	3,04	2,44/1,28
ENU + X 14	1,24/1,98	37,24/33,18	9,34/1,28	10,4	3,9	1,14/0,68	0,64/1,88
ENU + X 15	1,44/1,48	29,64/23,08	9,94/1,98	10,0	5,0	2,34	1,44
ENU + X 16	2,24/3,38	27,24/26,18	3,84/1,18	5,3	3,6	0,54/0,58	1,18

1 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten Tiere (%)

2 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten weiblichen Tiere (%)

Tabelle 7: Verteilung der tumoralen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen
Ergebnis der bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen Tiere (%)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
Kontrollen	9,1	0	0	0	0	0	0
X 14	0	0	0	0	0	9	0
X 15	0	0	0	0	0	14,3	0
X 16	0	0	0	0	0	0	0
ENU 14	4,6	15,6	0	0	0	4,6	2,8
ENU 15	2,1	13,4	0	4,4	0	5,2	0
ENU 16	0	14,1	0	1,9	0	4,3	0

Tabelle 7: (Fortsetzung)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar- ² tumoren	Uterus- ² tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
X + ENU 14	4,1	10,8	2,7	5,4	0	5,4	2,7
X + ENU 15	2,4	8,5	0	0	0	4,9	0
X + ENU 16	0	13,8	0	0	0	8,6	0
ENU + X 14	7,4	11,1	0	0	0	5,6	1,9
ENU + X 15	1,6	9,8	0	0	0	8,2	0
ENU + X 16	3,2	4,9	0	3,1	0	3,3	1,6

Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen Tiere (%)
 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl aller bis zum 12. Lebensmonat gestorbenen weiblichen Tiere (%)

Tabelle 8: Verteilung der tumorösen Erkrankungen auf die Versuchsgruppen
Ergebnis bei den im 12. Lebensmonat durchgeführten Sektionen (x) ¹

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hamangio- sarcome	sonstige Tumoren
Kontrollen	17,0	5,5	0	10,1	20,2	0	4,0 ^a
X 14	0	9,1	1,1	7,6	19,6	0	0
X 15	0,6	12,7	0	10,4	18,2	0	0,6 ^b
X 16	1,8	11,2	0	10,1	17,2	0	0
ENU 14	7,8	99,0	19,0	18,3	11,7	0	3,5 ^c
ENU 15	5,4	96,4	10,8	38,5	15,4	0	1,8 ^d
ENU 16	7,7	94,2	8,7	13,2	18,4	1,0	2,0 ^e

Tabelle 8: (Fortsetzung)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar-2 tumoren	Uterus-2 tumoren	Hämangio- sarkome	sonstige Tumoren
X + ENU 14	2,4	98,0	13,0	11,5	7,7	1,8	3,0 ^f
X + ENU 15	2,8	99,0	17,0	24,6	3,5	0	0,9 ^g
X + ENU 16	3,7	100	20,2	22,7	20,5	0	5,4 ^h
ENU + X 14	2,5	97,5	15,3	15,1	5,7	0	2,5 ⁱ
ENU + X 15	3,3	69,7	16,4	13,9	6,9	0	2 ^j
ENU + X 16	6,6	78,5	7,4	6,4	4,8	0	0,8 ^k

- 1 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der im 12. Lebensmonat durchgeführten Sektionen (%)
- 2 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl aller der im 12. Lebensmonat durchgeführten Sektionen an weiblichen Tieren (%)
- a Nierent. 1,5, Gekröset. 1, Lymphkt. 0,5, Darmt. 0,5, Thymust. 0,5
- b Thymust. 0,6
- c Hodent. 2,1, Thymust. 0,7, Hautt. 0,7
- d Thymust. 1,8
- e Thymust. 1, Darmt. 2
- f Hodent. 1,8, Nierent. 0,6, Thymust. 0,6
- g Hodent. 0,9
- h Hodent. 1,8, Augent. 0,9, Nierent. 0,9, Hautt. 0,9, Thymust. 0,9
- i Thymust. 1,7, Nierent. 0,8
- j Nierent. 2
- k Darmt. 0,8

Tabelle 9: Vergleich der Häufigkeiten tumoröser Erkrankungen (%) bei Spontanodesfällen (b i s z u m 12. Lebensmonat) mit dem Befund bei der Sektion (i m 12. Lebensmonat)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Over- tumoren	Uterus- tumoren	Hamangio- sarkome
Kontrollen	2,9/97,1	0/100	0/100	0/100	0/100	0/0
X 14	0/0	0/100	0/100	0/100	0/100	100/0
X 15	0/100	0/100	0/0	0/100	0/100	100/0
X 16	0/100	0/100	0/0	0/0	0/100	0/0
ENU 14	31,3/68,7	10,9/89,1	0/100	0/100	0/100	100/0
ENU 15	25,0/75,0	10,8/89,2	0/100	11,8/88,2	0/100	100/0
ENU 16	0/100	11,7/88,3	0/100	16,7/83,3	0/100	80/20

Tabelle 9: (Fortsetzung)

	Leukosen	Lungen- tumoren	Leber- tumoren	Ovar- tumoren	Uterus- tumoren	Hämangio- sarcome
X + ENU 14	42,9/57,1	4,7/95,3	8,3/91,7	18,2/81,8	0/100	57,1/42,9
X + ENU 15	40/60	6,3/93,7	0/100	0/100	0/100	100/0
X + ENU 16	0/100	6,8/93,2	0/100	0/100	0/100	100/0
ENU + X 14	57,1/42,9	5,0/95,0	0/100	0/100	0/100	100/0
ENU + X 15	16,7/83,3	5,4/94,6	0/100	0/100	0/100	100/0
ENU + X 16	20/80	3,1/96,9	0/100	20/80	0/100	100/0

/ stellt die tumorösen Erkrankungen der Spontanodesfälle den Befunden der Sektionen gegenüber

Tabelle 10: Bewertung der KOMBINATIONSWIRKUNGEN¹ in den Versuchsgruppen
a) hinsichtlich der Tumorfähigkeiten

Tumortragende Tiere/ Gesamtzahl der unters. Tiere (%)	X	ENU	X+ENU	EFFEKT	ENU + X	EFFEKT
Behandlung am 14. Gest.Tag	23,1	64,4	73,5	SUBADD	70,9	SUBADD
15. Gest.Tag	27,4	58,2	61,2	SUBADD	54,5	INTERF
16. Gest.Tag	22,7	56,6	67,7	SUBADD	51,1	INTERF
Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl der unters. Tiere						
Behandlung am 14. Gest.Tag	0,24	5,0	3,0	INTERF	3,1	INTERF ₂
15. Gest.Tag	0,27	4,7	4,4	INTERF	2,3	INTERF ₂
16. Gest.Tag	0,28	4,4	5,7	SYN	2,2	INTERF ₃
Tumöröse Erkrankungen/ Gesamtzahl der unters. Tiere						
Behandlung am 14. Gest.Tag	0,24	0,92	0,97	SUBADD	0,95	SUBADD
15. Gest.Tag	0,27	0,82	0,83	SUBADD	0,79	INTERF
16. Gest.Tag	0,28	0,76	1,04	ADD	0,70	INTERF

Tabelle 10: (Fortsetzung)

Anzahl der Tumoren/ Gesamtzahl der tumortragenden Tiere	X	ENU	X+ENU	EFFEKT	ENU + X	EFFEKT
Behandlung am						
14. Gest.Tag	1,02	7,75	4,13	INTERF	4,34	INTERF
15. Gest.Tag	1,00	8,05	7,20	INTERF	4,22	INTERF ²
16. Gest.Tag	1,26	7,73	8,40	SUBADD	4,36	INTERF ³
Tumoröse Erkrankungen/ Gesamtzahl der tumortragenden Tiere						
Behandlung am						
14. Gest.Tag	1,02	1,43	1,32	INTERF	1,34	INTERF
15. Gest.Tag	1,00	1,41	1,36	INTERF	1,46	SUBADD
16. Gest.Tag	1,26	1,33	1,53	SUBADD	1,38	SUBADD

Tabelle 10 (Fortsetzung)

b) hinsichtlich der Verteilung der tumorösen Erkrankungen (Gesamtergebnis Z)

Leukosen	X	ENU	X+ENU	EFFEKT	ENU+X	EFFEKT
Behandlung am						
14. Gest.Tag	0	6,4	2,9	INTERF	4,1	INTERF
15. Gest.Tag	0,6	3,8	2,7	INTERF	2,8	INTERF
16. Gest.Tag	1,7	4,1	2,4	INTERF	5,4	SUBADD
Lungentumoren						
Behandlung am						
14. Gest.Tag	8,6	62,4	71,0	ADD	70,3	SUBADD
15. Gest.Tag	12,2	57,7	59,6	SUBADD	52,6	INTERF
16. Gest.Tag	11,0	56,6	65,3	SUBADD	53,3	INTERF
Lebertumoren						
Behandlung am						
14. Gest.Tag	1,1	10,8	10,1	INTERF	10,5	INTERF
15. Gest.Tag	0	5,8	9,6	SYN	11,7	SYN
16. Gest.Tag	0	4,6	13,2	SYN	4,9	SYN
Ovartumoren ⁴						
Behandlung am						
14. Gest.Tag	7,6	9,9	9,6	INTERF	10,4	SUBADD
15. Gest.Tag	9,9	20,0	14,0	INTERF	10,0	INTERF
16. Gest.Tag	9,8	6,6	14,5	SUBADD	5,3	ANTAG

Tabelle 10: (Fortsetzung)

Uterustumoren ⁴	X	ENU	X+ENU	EFFEKT	ENU+X	FFEKT
Behandlung am						
14. Gest.Tag	19,6	6,3	5,2	ANTAG	3,9	ANTAG
15. Gest.Tag	17,3	7,1	2,0	ANTAG	5,0	ANTAG
16. Gest.Tag	16,7	7,7	13,0	INTERF	3,6	ANTAG
Hämangiosarkome						
Behandlung am						
14. Gest.Tag	0,5	2,0	2,9	SYN	1,7	INTERF
15. Gest.Tag	0,6	2,4	2,1	INTERF	2,3	INTERF
16. Gest.Tag	0	2,6	3,0	SYN	1,1	INTERF

Tabelle 10:(Fortsetzung)
c) hinsichtlich der kumulativen Mortalitätsrate (Z) nach 12 Lebensmonaten

Kumulative Mortalitätsrate in Z nach 12 Lebensmonaten	X	ENU	X+ENU	EFFEKT	ENU+X	EFFEKT
Behandlung am						
14. Gest.Tag	19,4	51,4	39,5	INTERF	42,4	INTERF
15. Gest.Tag	17,8	51,9	50,2	INTERF	42,3	INTERF
16. Gest.Tag	12,9	55,0	44,4	INTERF	47,1	INTERF

1 In Anlehnung an Phillips, T.L., 1977

Beispiel:

SYN	Synergismus	2 + 1 = 4
ADD	Addition	2 + 1 = 3
SUBADD	Subaddition	2 + 1 = 2,5
INTERF	Interferenz	2 + 1 = 1,5
ANTAG	Antagonismus	2 + 1 = 0,5

2 Annahme: 4 Lungentumoren pro Lungentumor tragendes Tier

3 Annahme: 4 Lungentumoren pro Lungentumor tragendes Tier

4 Anzahl der tumorösen Erkrankungen/Gesamtzahl der untersuchten weiblichen Tiere

Tabelle 11: Literaturübersicht zur Induktion von HÄMANGIOSARKOMEN

a) durch Sr 90

Radio-nuklid	Tierart	Applikationsform	Aktivität (μCi/kg)	Kumulierte Dosis (rad)	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Sr 90	CF1/An1 Mäuse ♀	intravenös einmalig	44 – 2200	–	–	Knochen	≤ 13% * 16,7% **	Finkel, M.P. et al. 1959
Sr 90	CBA Mäuse ♂	intravenös einmalig	1000	–	–	Knochen	35,7% *	Barnes, D.W.H. et al. 1970
Sr 90	CBA Mäuse ♂	intravenös einmalig	200	–	–	Knochen	12,5% *	Nilsson, A. et al. 1968/1970
			400	–	–	Knochen	4,4% *	
			800	27000 – 31 000	–	Knochen	2,1% *	
			1600	52000	–	Knochen	0,9% *	
Sr 90	Mäuse ♀	intra-peritoneal	200	–	≥ 550 Tage p.i.	Knochen	2% *	Van Putten, L.M. et al. 1962

* % der behandelten Tiere

** % der Tumorträger

*** % der gesamten Tumoren

p.i. post injectionem

Tabelle 11 a: (Fortsetzung)

Radio-nuklid	Tierart	Applikations-form	Aktivität ($\mu\text{Ci/kg}$)	Kumulierte Dosis (rad)	Latenz-zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Sr-90	CBA/H C3H/H Mäuse ♂	intra-peritoneal einmalig	—1000	—	330 Tage p.i.	Knochen	44% *	Loutit, J.F. 1976
	CBA/H C3H/H Mäuse ♀		—1000		300 Tage p.i.	Knochen	20% *	
Sr-90	CBA/H Mäuse	intravenös einmalig	340 — 1000	—	—	Knochen	48% * 54% **	Bland, M.R. et al. 1972
Sr-90	Ratten	Futter 10 — 30 Tage	330 — 790	—	—	Knochen	16% **	Casarett, G.W. et al. 1962
Sr-90	Ratten ♂	Radioaktiver Ring um rech- ten Femur 360 Tage	—	15100	—	Knochen	4% * 16,6% **	Solheim, O.P. 1977
			—	29500	—	Knochen	13% * 37,5% **	
Sr-90	Beagles	intravenös einmalig	98	9480	4,0 Jahre p.i.	Knochen	14% * 20% **	Dougherty, T.F. et al. 1969

Tabelle 11 a: (Fortsetzung)

Radio-nuklid	Tierart	Applikations-form	Aktivität ($\mu\text{Ci/kg}$)	Kumulierte Dosis (rad)	Latenz-zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Sr 90	Beagles	intravenös einmalig	0,6 – 98	8700	3,5 Jahre p.i.	Knochen	27% **	Dougherty, T.F. et al. 1972
Sr 90	Beagles	i.v., i.m., s.c. einmalig, mehrfach	7 – 500	–	1,5 – 13 Jahre p.i.	Knochen	$\leq$ 18% **	Finkel, M.P. et al. 1972
Sr 90	Beagles	Futter	0,03 – 36 $\mu\text{Ci/Tag}$	1000 – 15500	1,2 – 8,75 Jahre p.i.	Knochen	3% **	Dungworth, D.L. et al. 1970
Sr 90 (-Cl ₂)	Beagles	Inhalation	–	–	–	Knochen	41% **	McClellan, R.O. et al. 1972
Sr 90 (-Cl ₂)	Beagles	Inhalation	–	3300 – 22000	1,6 – 8,1	Knochen	17% * 44% ** 37% ***	Benjamin, S.A. et al. 1975
Sr 90 (-fused clay)			–	43000 – 67000	1,8 – 3,3 Jahre p.i.	Lunge	18% * 100% ** 87% ***	

Tabelle 11: (Fortsetzung)

b) durch Cer 144

Radio-nuklid	Tierart	Applikations-form	Aktivität ($\mu\text{Ci/kg}$)	Kumulierte Dosis (rad)	Latenz-zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Ce 144 ($-\text{O}_2$)	C57 Bl 6J Mäuse ♀	Inhalation wiederholt	10 — 225	≤ 36000	< 500 Tage p.i.	Lunge	—	Hahn, F.F. et al. 1980
Ce 144 ($-\text{Cl}_3$)	Sprague-Dawley Ratten ♂	intramuskulär einmalig	250	—	398 Tage p.i.	Knochen	22% * 24% ***	Delbrück, H.G. 1980
Ce 144 ($-\text{Cl}_3$)	Sprague-Dawley Ratten ♂	intramuskulär einmalig	250	—	392 Tage p.i.	Knochen	21% * 27% ***	Klein, B. 1977
Ce 144	Chinesische Hamster	intraperitoneal einmalig	250	56000	540 Tage p.i.	Leber	3% * 20% ** 20% ***	Benjamin, S.A. et al. 1968
Ce 144	Beagles	intravenös einmalig	55 — 80	20000	> 2,5 Jahre p.i.	Leber	14% ***	Fritz, T.E. et al. 1970
				—	> 2,5 Jahre p.i.	Unterhaut	14% ***	

Tabelle 11 b. (Fortsetzung)

Radio-nuklid	Tierart	Applikations-form	Aktivität ($\mu\text{Ci/kg}$)	Kumulierte Dosis (rad)	Latenz-zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Ce 144 (-Cl ₃)	Beagles	Inhalation	—	11000 — 24000	2,2 — 7,6 Jahre p.i.	Leber	9% *	Benjamin, S.A. et al. 1975
							45% **	
							38% ***	
Ce 144 (-fused clay)			—	920 — 8100	2,2 — 7,6 Jahre p.i.	Knochen	2% *	
							9% **	
							8% ***	
Ce 144 (-fused clay)			—	29000 — 61000	2 — 3,6 Jahre p.i.	Lunge	6% *	
							100% **	
							78% ***	
Ce 144 (-Cl ₃)	Beagles	Inhalation	—	1000 — 24000	1759 — 5485 Tage p.i.	Leber	13% *	Boecker, B.B. et al. 1974
							22% ***	
Ce 144 (-fused clay)			—	4000 — 25000	1632 — 4085 Tage p.i.	Intranasaler Raum	2% *	
							3% ***	
Ce 144 (-fused clay)	Beagles	Inhalation	26 — 46	23000 — 48000	750 — 1318 Tage p.i.	Lunge	5% *	Hahn, F.F. et al. 1973
							100% **	
							71% ***	

Tabelle 11: (Fortsetzung)

c) durch Nitroso-Verbindungen

(excl. Nitroso-Harnstoff-Verbindungen)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Dimethylnitrosamin	Swiss Mäuse ♀	intra-peritoneal	60 mg/g Gesamtdosis nach 10 Wochen	70 – 92 Wochen	Leber	6% *	Cardesa, A. 1973
						7,5% **	
				50 – 68 Wochen	Retroperitoneum	10% *	
						12,5% **	
				45 – 59 Wochen	Becken	8% *	
						10% **	
				48 – 52 Wochen	Parametrium	6% *	
						7,5% **	
				38 Wochen	Milz	2% *	
						2,5% **	
				52 – 77 Wochen	Leber	10% *	
						12,5% **	
	Swiss Mäuse ♂			66 Wochen	Retroperitoneum	2% *	
						2,5% **	
Dimethylnitrosamin	Mastomys natalensis	intra-peritoneal	10 mg/kg Gesamtdosis nach 1 Woche	–	Leber	6% *	Wayss, K. et al. 1979

Tabelle 11 c: (Fortsetzung)

Nitroso- Verbindung	Tierart	Applikations- form	Applizierte Menge	Latenz- zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Dimethylnitrosamin	C3Hf Mäuse ♀	Trink- wasser	112 mg/kg Gesamtdosis nach 13 Wochen	51 Wochen	Leber	5% *	Den Engelse, L. et al. 1974
			122 mg/kg Gesamtdosis nach 13 Wochen	— 44 Wochen	Mesenterium Leber	5% * 25% *	
	C3Hf Mäuse ♂		114 mg/kg Gesamtdosis nach 13 Wochen	—	Retroperitoneum	10% *	
				—	Leber usw.	0% *	
Dimethylnitrosamin	RF Mäuse ♂	Trink- wasser	304 mg/kg Gesamtdosis nach 47 Wochen	47 Wochen	Leber	71% *	Clapp, N.K. et al. 1968
Dimethylnitrosamin	RF Mäuse ♂	Trink- wasser	87 mg/kg Gesamtdosis nach 7 Wochen	60 Wochen	Leber	11% *	Clapp, N.K. et al. 1970
			170 mg/kg Gesamtdosis nach 58 Wochen	68 Wochen	Leber	51% *	
			243 mg/kg Gesamtdosis nach 38 Wochen	48 Wochen	Leber	95% *	

Tabelle 11 c:(Fortsetzung)

Nitroso- Verbindung	Tierart	Applikations- form	Applizierte Menge	Latenz- zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Nitrosodimethylamin	DDD Mäuse ♀	Futter	265—1450 mg/kg Gesamtdosis nach 2 — 13 Wochen	—	Leber	5% *	Otsuka, H. et al. 1971
				—	Retroperitoneum	5% *	
				—	Abdominalraum	2,5% *	
				—	Subcutis	2,5% *	
				—	Milz	2,5% *	
				—	Leber	10% *	
				—	Retroperitoneum	38% *	
Nitrosodimethylamin	DDD Mäuse ♂	subcutan	7,5 - 188 mg/kg Gesamtdosis nach 1 — 25 Wochen	—	Abdominalraum	18% *	
				—	Subcutis	10% *	
				—	Nieren	7,5% *	
				—	Milz	7,5% *	
				—	Lunge	7,5% *	
				—	Leber	2,4% *	
				—	Retroperitoneum	37% *	
				—	Abdominalraum	10% *	
				—	Subcutis	2,4% *	
				—	Lungen	2,4% *	
Nitrosodimethylamin	BALB/c Mäuse ♂ u. ♀		45 - 173 mg/kg Gesamtdosis nach 6 — 23 Wochen	—	Leber	2,4% *	
				—	Retroperitoneum	37% *	

Tabelle 11 c:(Fortsetzung)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
N-Nitrosodimethylamin	ddN Mäuse ♂	Futter	1058 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	30 Wochen	Leber	7,4% * 9,5% **	Takayama, S. et al. 1965
	ICR Mäuse ♂		998 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	30 Wochen	Leber	13,6% * 17,6% **	
	ICR Mäuse ♂		2712 mg/kg Gesamtdosis nach 40 Wochen	37 Wochen	Leber	20% * 23,5% **	
	ddN Mäuse ♂		2433 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	30 Wochen	Leber	20% * 23,5% **	
	ICR Mäuse ♂		2460 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	30 Wochen	Leber Subcutis	0% * 5% * 9% **	
Nitrosodimethylamin	F344 Ratten ♀	Trinkwasser	1950 mg/kg Gesamtdosis nach 30 Wochen	—	Leber	35% *	Lijinsky, W. et al. 1984
N-Nitrosodimethylamin	Sprague Dawley Ratten ♂	Futter	0,05% des Futters 2 Wochen	—	Niere	7,1% *	Shiohara, Y. et al. 1976
N-Nitrosodimethylamin	Donryu Ratten ♂	Futter	2325 mg/kg Gesamtdosis nach 40 Wochen	74 Wochen	Leber	17,7% * 75% **	Takayama, S. et al. 1969
	Donryu Ratten ♀		1787 mg/kg Gesamtdosis nach 40 Wochen	74 Wochen	Leber	7,7% * 20% **	

Tabelle 11 c:(Fortsetzung)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Dimethylnitrosamin	Syrische Hamster	subcutan	100 – 400 mg/kg Gesamtdosis nach 4–16 Wochen	–	Leber	30% *	Herrold, K. et al. 1967
			200 – 250 mg/kg Gesamtdosis nach 16 – 20 Wochen	–	Leber	70% *	
Diethylnitrosamin	BALB/c Mäuse ♂	Trinkwasser	1010 mg/kg Gesamtdosis nach 22 Wochen	–	Leber	23% * 28% **	Clapp, N.K. et al. 1971
			515 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	–	Leber	27% * 28% **	
			943 mg/kg Gesamtdosis nach 22 Wochen	–	Leber	2% *	
N-Nitrosodiethylamin	ICR Mäuse ♂	Trinkwasser	897 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	27 Wochen	Leber	3,3% * 9% **	Takayama, S. et al. 1965

Tabelle 11 c: (Fortsetzung)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
2,2'-Dihydroxy-di-n-propylnitrosamine	Syrische Hamster ♀	subcutan	10000 mg/kg Gesamtdosis nach 20 Wochen	20 Wochen	Leber	15% *	Pour, P. et al. 1975
	Syrische Hamster ♂		11000 mg/kg Gesamtdosis nach 22 Wochen	22 Wochen	Leber	45% *	
	Syrische Hamster ♀		7250 mg/kg Gesamtdosis nach 29 Wochen	29 Wochen	Leber	40% *	
	Syrische Hamster ♂		6250 mg/kg Gesamtdosis nach 25 Wochen	25 Wochen	Leber	55% *	
	Syrische Hamster ♀		4375 mg/kg Gesamtdosis nach 35 Wochen	35 Wochen	Leber	10% *	
	Syrische Hamster ♂		4000 mg/kg Gesamtdosis nach 32 Wochen	32 Wochen	Leber	55% *	
2,2'-Dihydroxy-di-n-propylnitrosamin	Meerschweinchen ♂	subcutan	7500 mg/kg Gesamtdosis nach 30 Wochen	22 - 40 Wochen	Leber	58% * 72% **	Rao, M.S. et al. 1977

Tabelle 11 c:(Fortsetzung)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
N-Nitroso-bis-(2-hydroxypropyl)amine	MRC Ratten ♀	subcutan	17000 mg/kg Gesamtdosis nach 34 Wochen	34 Wochen	Leber	47% • 47% ••	Pour S. et al. 1979
			12000 mg/kg Gesamtdosis nach 48 Wochen	48 Wochen	Leber	67% • 67% ••	
			7250 mg/kg Gesamtdosis nach 58 Wochen	58 Wochen	Leber	33% • 33% ••	
	MRC Ratten ♂		17500 mg/kg Gesamtdosis nach 35 Wochen	35 Wochen	Leber	33% • 33% ••	
			9750 mg/kg Gesamtdosis nach 39 Wochen	39 Wochen	Leber	40% • 43% ••	
			6250 mg/kg Gesamtdosis nach 50 Wochen	50 Wochen	Leber	20% • 20% ••	
N-Nitroso-bis-(2-oxo-propyl)amine	MRC Ratten ♀		680 mg/kg Gesamtdosis nach 68 Wochen	68 Wochen	Leber	40% • 43% ••	
			455 mg/kg Gesamtdosis nach 91 Wochen	91 Wochen	Leber	0% • 0% ••	
			270 mg/kg Gesamtdosis nach 108 Wochen	108 Wochen	Leber	7% • 7% ••	

Tabelle 11 c:(Fortsetzung)

Nitroso-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
N-Nitroso-bis-(2-oxo-propyl)amine	MRC Ratten ♂	subcutan	460 mg/kg Gesamtdosis nach 46 Wochen	46 Wochen	Leber	13% * 15% **	Pour, S. et al. 1979
			345 mg/kg Gesamtdosis nach 69 Wochen	69 Wochen	Leber	7% * 7% **	
			205 mg/kg Gesamtdosis nach 82 Wochen	82 Wochen	Leber	0% * 0% **	
N-Ethyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidin	Wistar Ratten ♂	subcutan	68 mg/kg Gesamtdosis nach 5 Wochen	—	Subcutis	11,1% * 14,2% **	Sano, T. et al. 1978
			80 mg/kg Gesamtdosis nach 5 Wochen	—	Subcutis	9% * 50% **	
N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidin	Mongrel Hunde	Trinkwasser	— nach 66 Wochen	85 — 149 Wochen	Magen	50% *	Shimosato, Y. et al. 1971

Tabelle 11:(Fortsetzung)

d) durch Nitroso-Harnstoff-Verbindungen

Nitroso-Harnstoff-Verbindung	Tierart	Applikationsform	Applizierte Menge	Latenzzeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
N-Methyl-N-Nitrosomethan	NIH Meer-schweinchen ♂	intra-peritoneal	180 mg/kg Gesamtdosis nach 18 Wochen	25 - 31 Wochen	Mesenterium	5% 18% • •	Rao, M.S. et al. 1977
				24 Wochen	Leber	2% 9% • •	
N-Nitroso-N-Methylharnstoff	Meer-schweinchen ♂	intra-gastral	337 mg/kg Gesamtdosis nach 30 Wochen	30 - 38 Wochen	Leber	9% 36% • •	Toshida, A. et al. 1977
Methylnitroso-harnstoff	Rippenmolche	einmalig 10 mg/l	in Glasgefäß Aqua dest.	105 Wochen	Schwanz	25% •	Jänisch, W. et al. 1980
		zweiwöchig 2 mg/l 11 x	in Glasgefäß Aqua dest.	72 Wochen	Hals	20% •	
		wöchentlich 2 mg/l 9 x	in Glasgefäß Aqua dest.	42 Wochen	Schwanz	20% •	
		dreiwöchig 1 mg/l 9 x	in Glasgefäß Aqua dest.	114 Wochen	Schwanz	11% •	
		zweiwöchig 50 µl 5 x	i.p.	137 Wochen	Schwanz	25% •	
Ethylnitroso-harnstoff		einmalig 5 mg/500 ml	in Glasgefäß Aqua dest.	134 Wochen	Kopf	25% •	

Tabelle 11 d: (Fortsetzung)

Nitroso-Harnstoff- Verbindung	Tierart	Applikations- form	Applizierte Menge	Latenz- zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
Nitrosomethyl- diethylharnstoff	F 344 Ratten ♀	Trink- wasser	3300 mg/kg Gesamtdosis nach 33 Wochen	—	Leber	5% * 6% **	Lijinski, W. et al. 1980
1,1-Diethyl-3-methyl- 3-nitrosoharnstoff	Syrische Hamster ♂	subcutan	735 mg/kg Gesamtdosis nach 26 Wochen	23 Wochen	Milz	13% *	Ketkar, M.B. et al. 1984
	Syrische Hamster ♀		735 mg/kg Gesamtdosis nach 26 Wochen	24 Wochen	Milz	47% *	
	Syrische Hamster ♂		551 mg/kg Gesamtdosis nach 39 Wochen	37 Wochen	Milz	80% *	
	Syrische Hamster ♀		551 mg/kg Gesamtdosis nach 39 Wochen	33 Wochen	Milz Leber	73% * 7% *	
	Syrische Hamster ♂		403 mg/kg Gesamtdosis nach 52 Wochen	50 Wochen	Milz	40% *	
	Syrische Hamster ♀		403 mg/kg Gesamtdosis nach 52 Wochen	39 Wochen	Milz Leber	60% * 27% *	

Tabelle 11 d: (Fortsetzung)

Nitroso-Harnstoff- Verbindung	Tierart	Applikations- form	Applizierte Menge	Latenz- zeit	Lokalisation	Häufigkeit	Referenz
1-Propyl-1- nitrosoharnstoff	Syrische Hamster ♂	Trink- wasser	1288 mg/kg Gesamtdosis nach 23 Wochen	23 Wochen	Milz	83% *	Takahashi, M. et al. 1982
					Leber	18% *	
					Lunge	3% *	
					Lymphknoten	3% *	
	Syrische Hamster ♀		1243 mg/kg Gesamtdosis nach 22 Wochen	22 Wochen	Milz	85% *	
					Leber	18% *	
	Syrische Hamster ♂		522 mg/kg Gesamtdosis nach 37 Wochen	37 Wochen	Milz	80% *	
					Leber	15% *	
					Lunge	3% *	
					Speicheldrüsen	3% *	
	Syrische Hamster ♀		493 mg/kg Gesamtdosis nach 35 Wochen	35 Wochen	Milz	65% *	
					Leber	5% *	

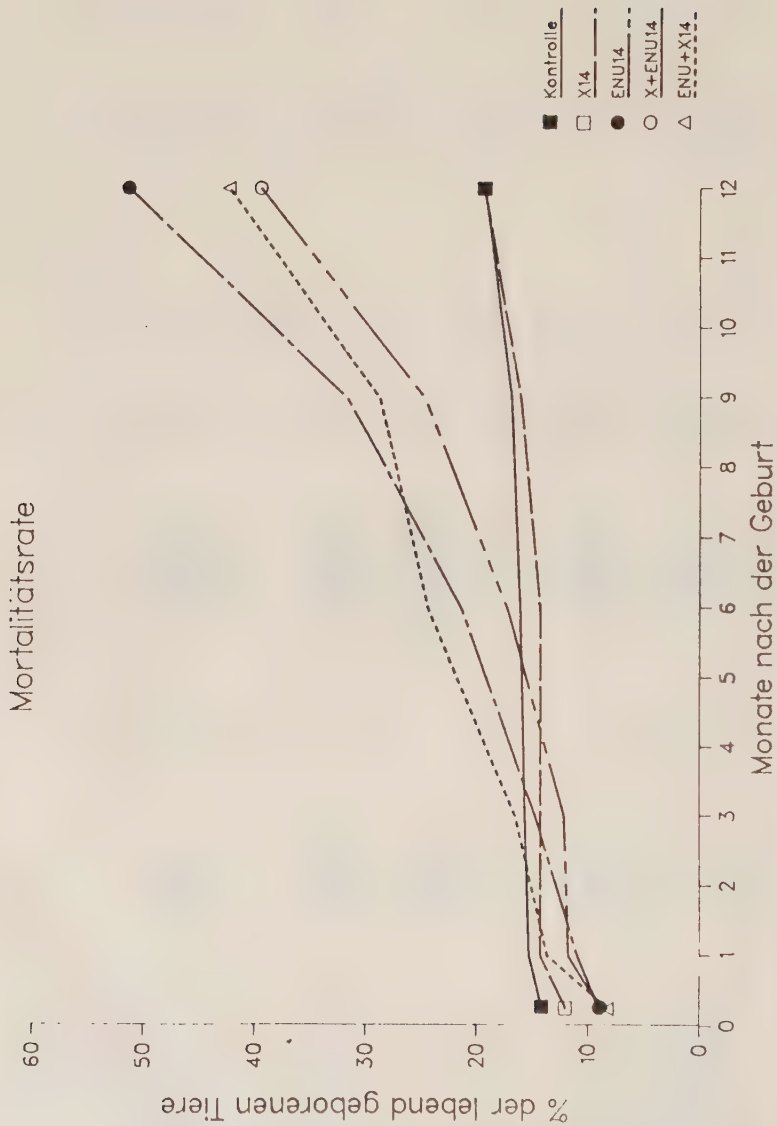


Abb. 1: Mortalitätsrate der am 14. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

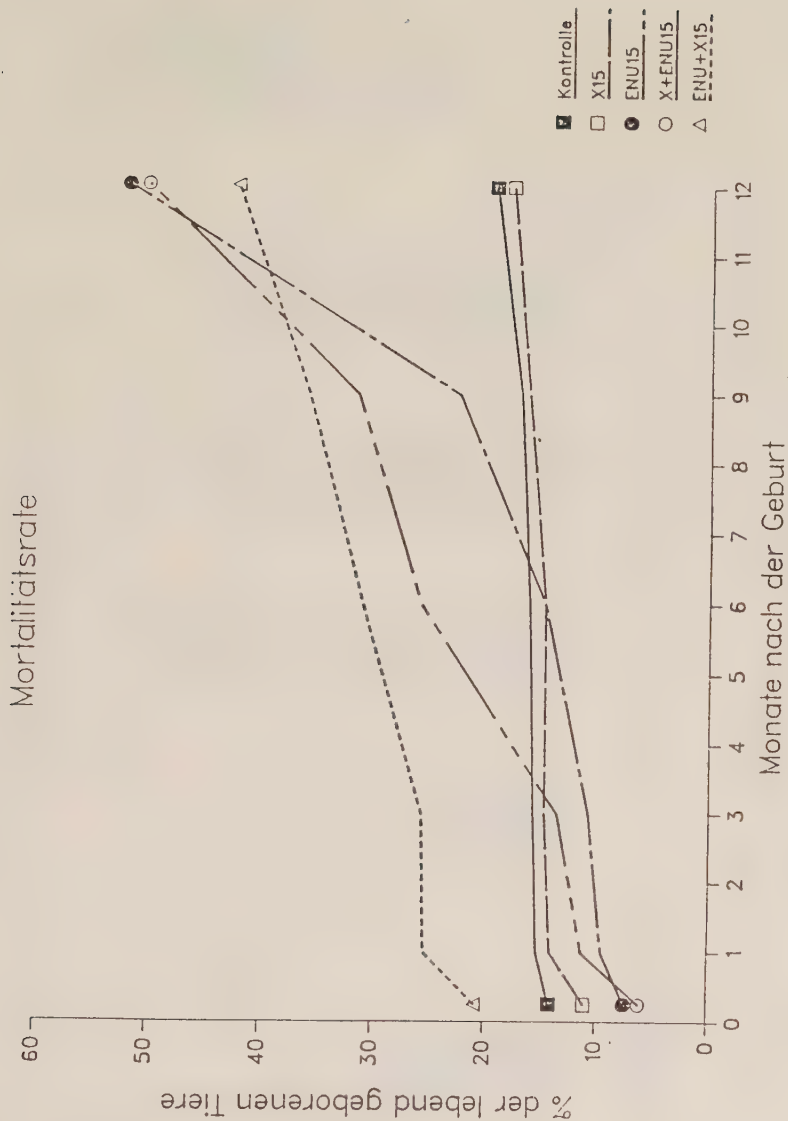


Abb. 2: Mortalitätsrate der am 15. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

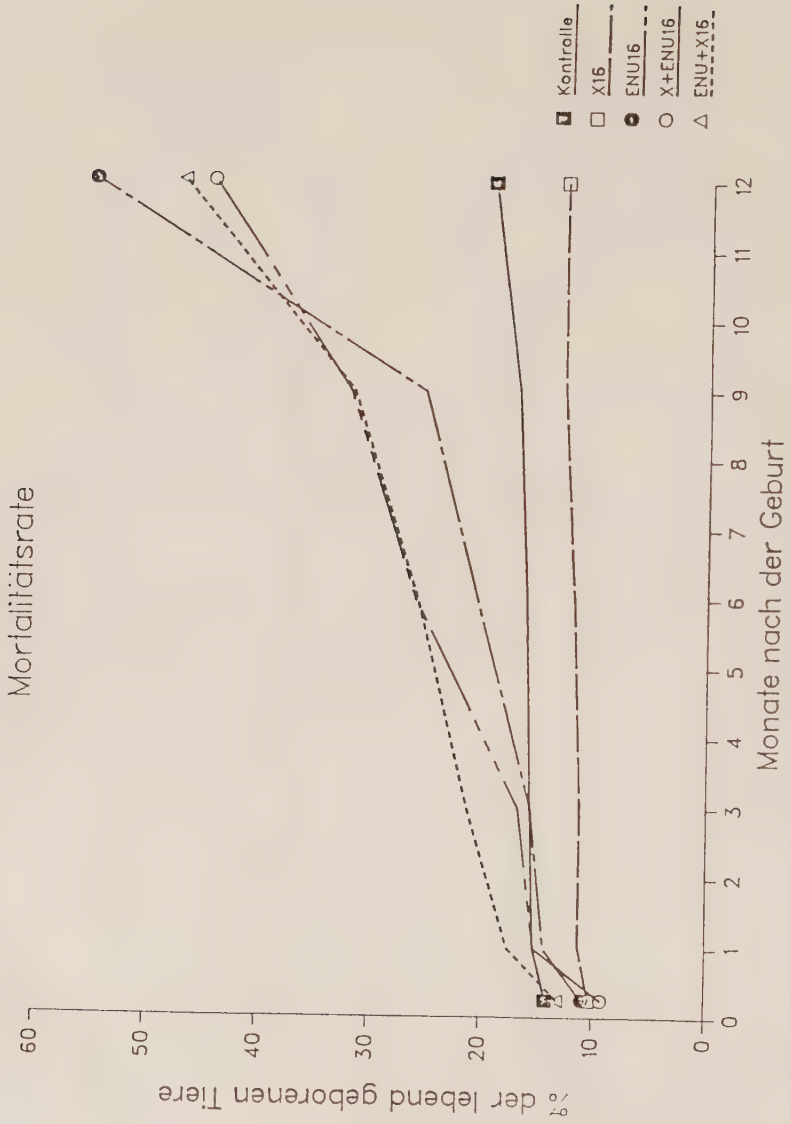


Abb. 3. Mortalitätsrate der am 16. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

Kumulative Mortalitätsrate

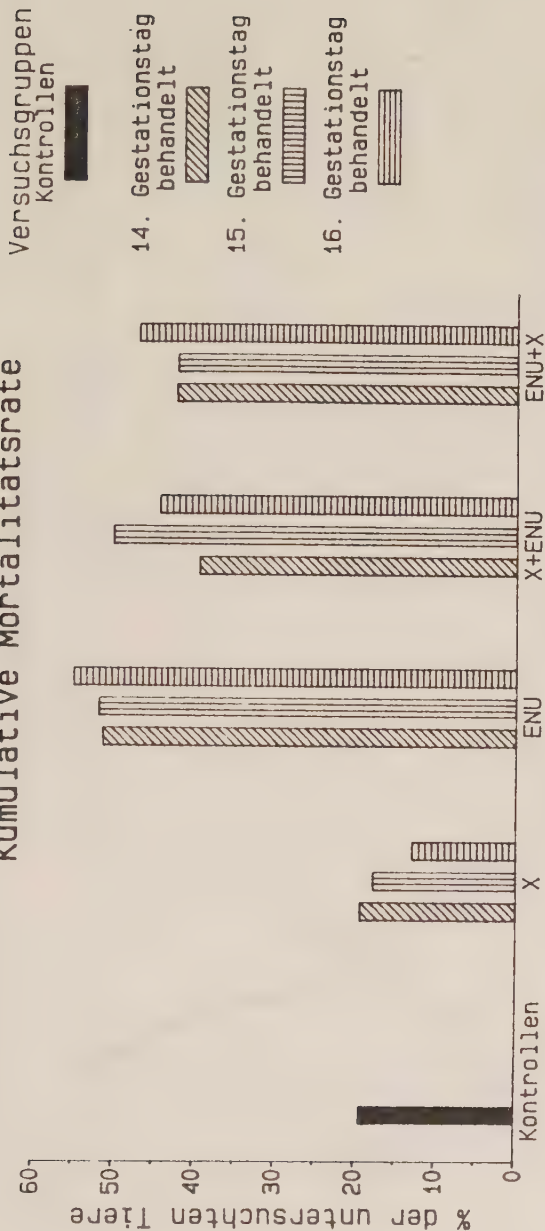


Abb. 4: Kumulative Mortalitätsrate der behandelten Tiere und Kontrollen nach 12 Lebensmonaten

Kontrollgruppe bzw. X	p < 0,001	zu ENU X+ENU, bzw. ENU+X	X+ENU14	p < 0,01	X+ENU15
X+ENU14 bzw. X+ENU16	p < 0,01 bzw. p < 0,05	zu ENU14, ENU15, bzw. ENU16	ENU+X15	p < 0,05	ENU15

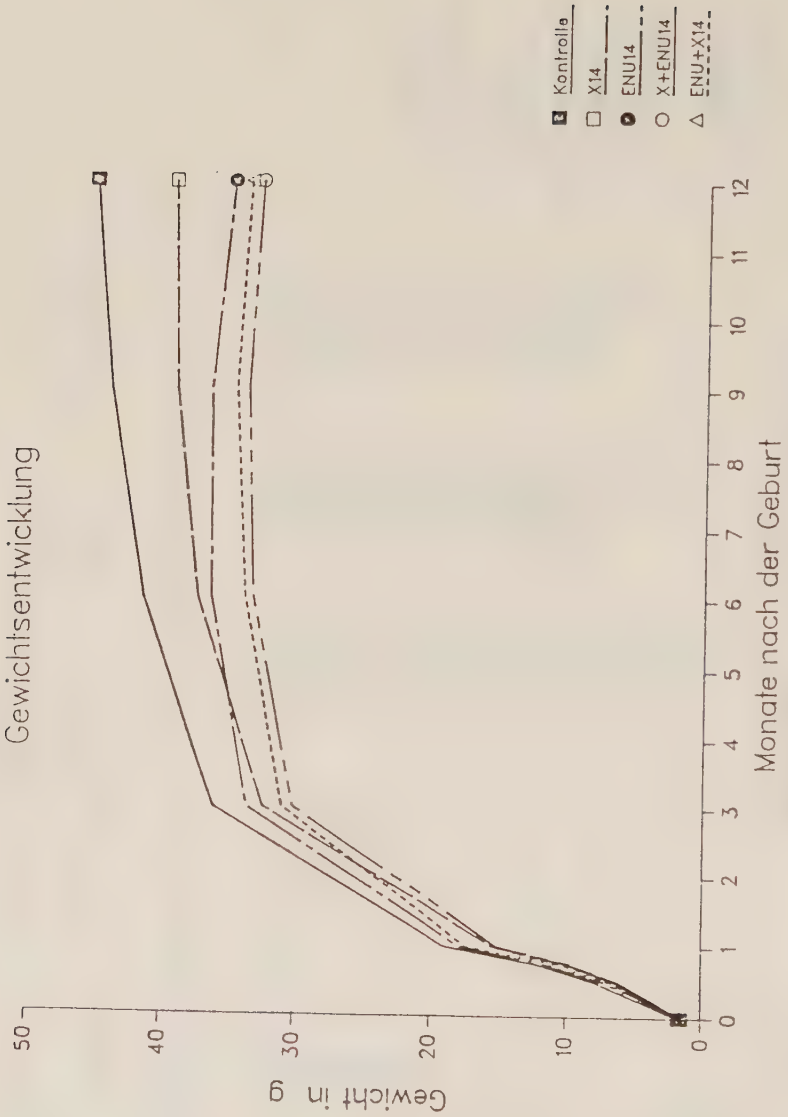


Abb. 5: Gewichtszunahme der am 14. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

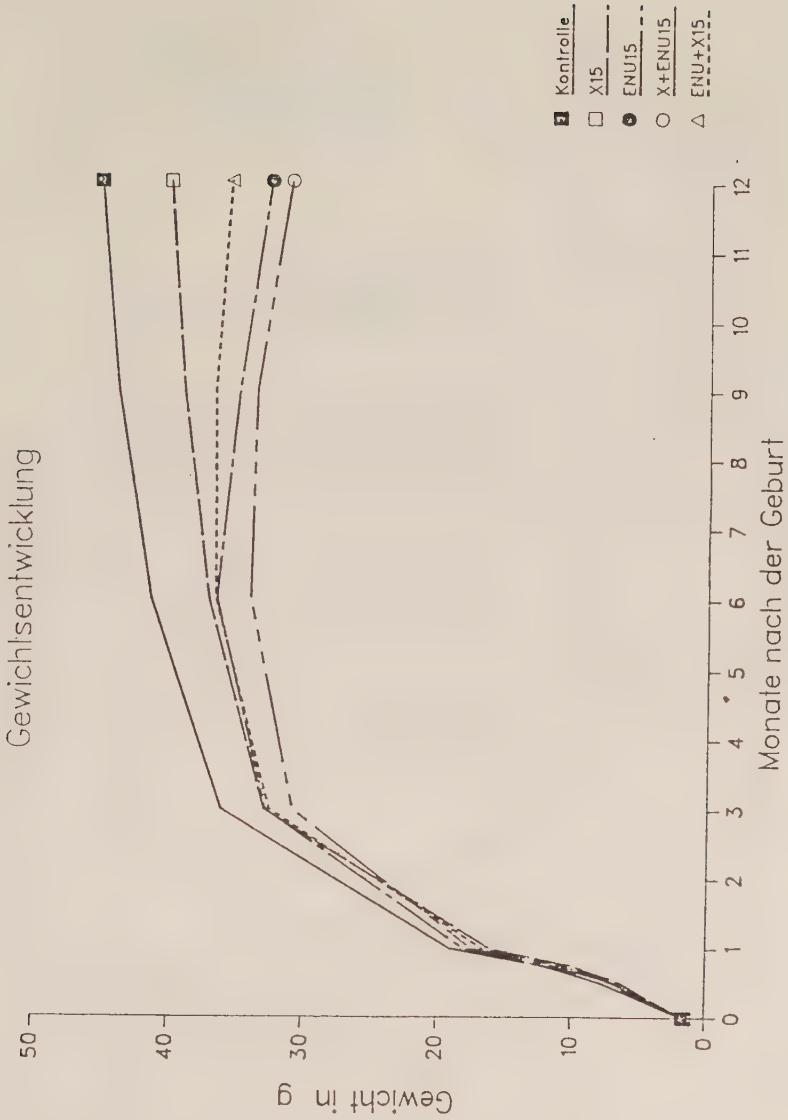


Abb. 6: Gewichtszunahme der am 15. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

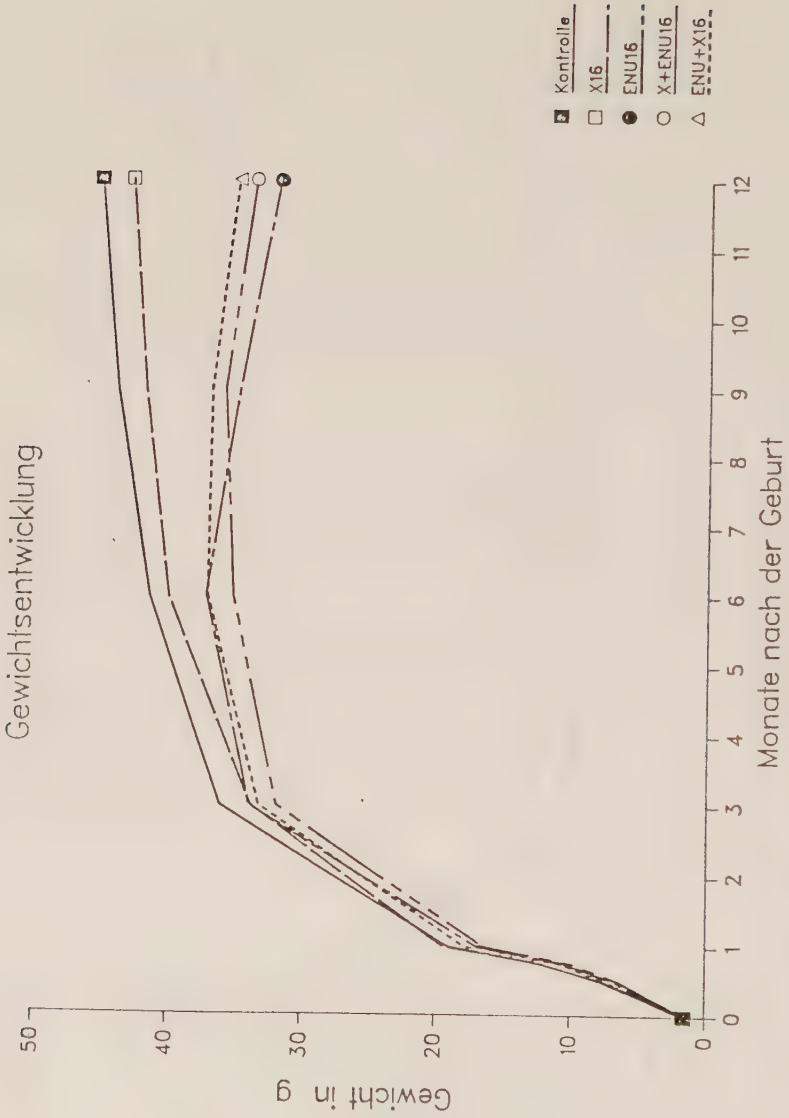


Abb. 7: Gewichtszunahme der am 16. Gestationstag behandelten Tiere und Kontrollen

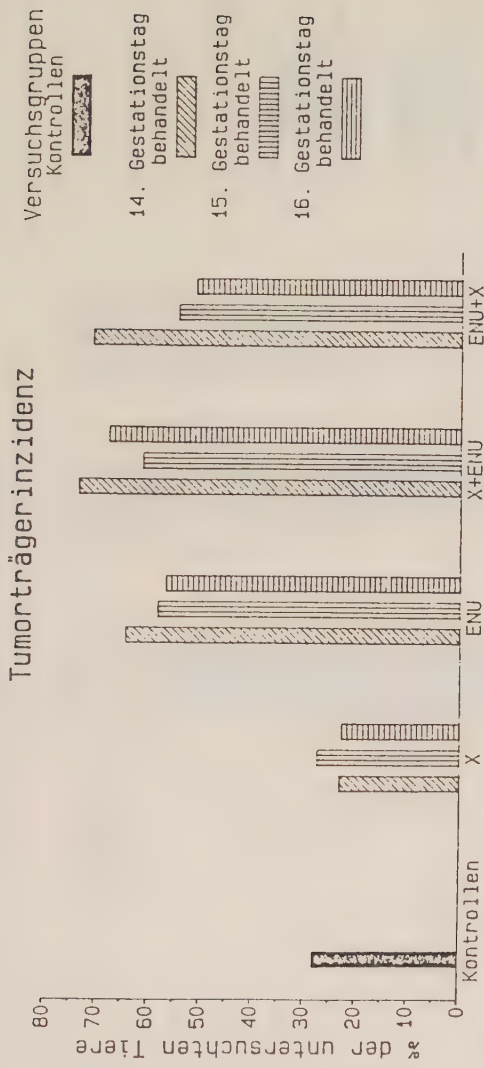


Abb. 8: Tumortragende Tiere / Gesamtzahl der untersuchten Tiere in den Versuchsgruppen

Kontrollgruppe bzw. X	zu ENU X+ENU bzw. ENU+X	p < 0,001	zu ENU X+ENU15	p < 0,05	zu X+ENU14
ENU14	zu X+ENU14	p < 0,05	X+ENU16	p < 0,05	zu X+ENU14
ENU16	zu X+ENU16	p < 0,05	ENU+X16	p < 0,01	zu X+ENU16
ENU16	zu ENU14	p < 0,05	ENU+X15	p < 0,001	zu ENU+X14
			ENU+X16	p < 0,001	zu ENU+X14

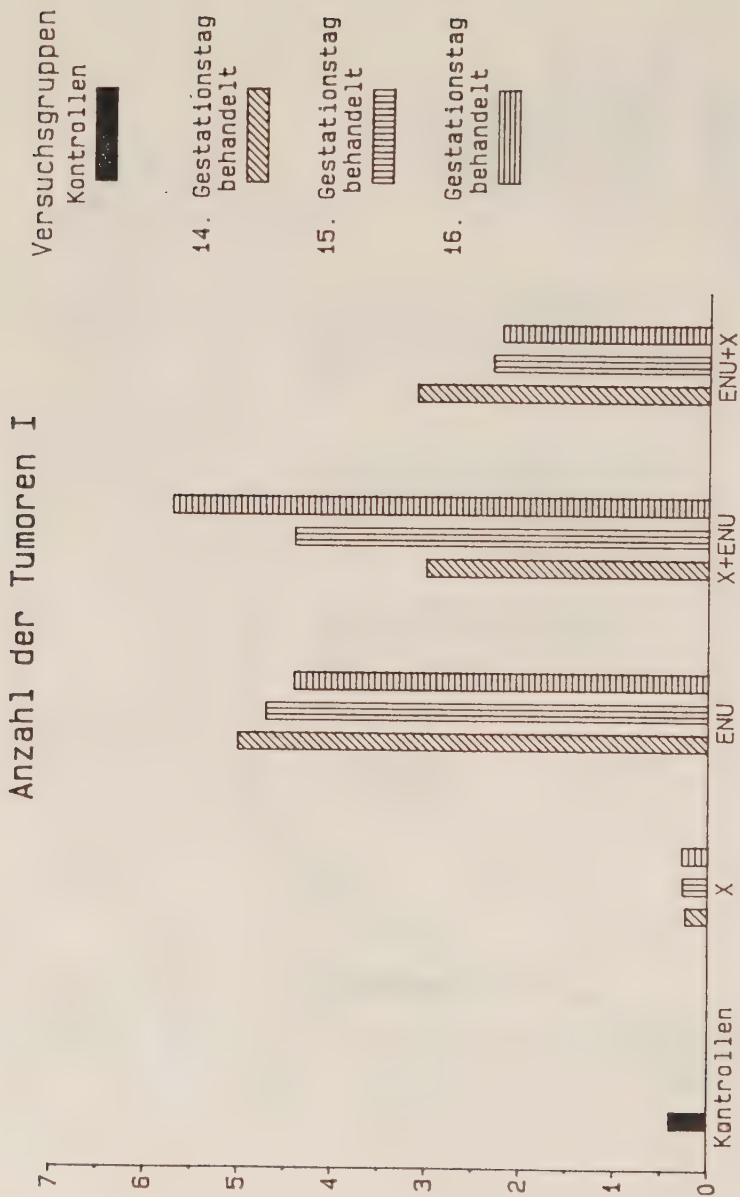


Abb. 9: Anzahl der Tumoren / Gesamtzahl der untersuchten Tiere in den Versuchsgruppen

Tumoröse Erkrankungen I

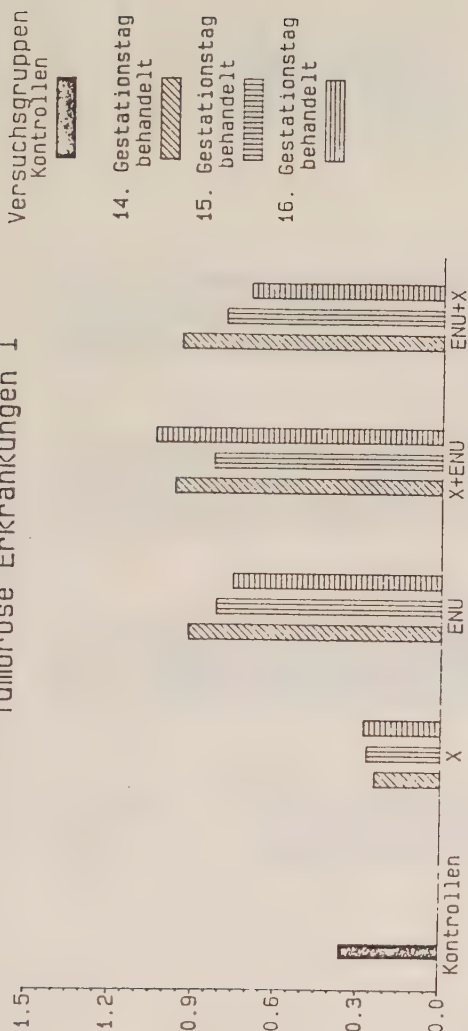


Abb. 10: Tumoröse Erkrankungen / Gesamtzahl der untersuchten Tiere in den Versuchsgruppen

X14	p < 0,05	zur Kontrollgruppe	X+ENU15	p < 0,05	zu X+ENU14
X14	p < 0,001	(nur T-Test)	X+ENU15	p < 0,05	(nur Kruskal-Wallis-Test)
X15	p < 0,001	zu ENU14	ENU+X16	p < 0,001	zu X+ENU16
X16	p < 0,001	zu ENU15	ENU+X15	p < 0,05	zu X+ENU16
ENU16	p < 0,01	zu ENU16			zu ENU+X14
					(nur Kruskal-Wallis-Test)

Anzahl der Tumoren II

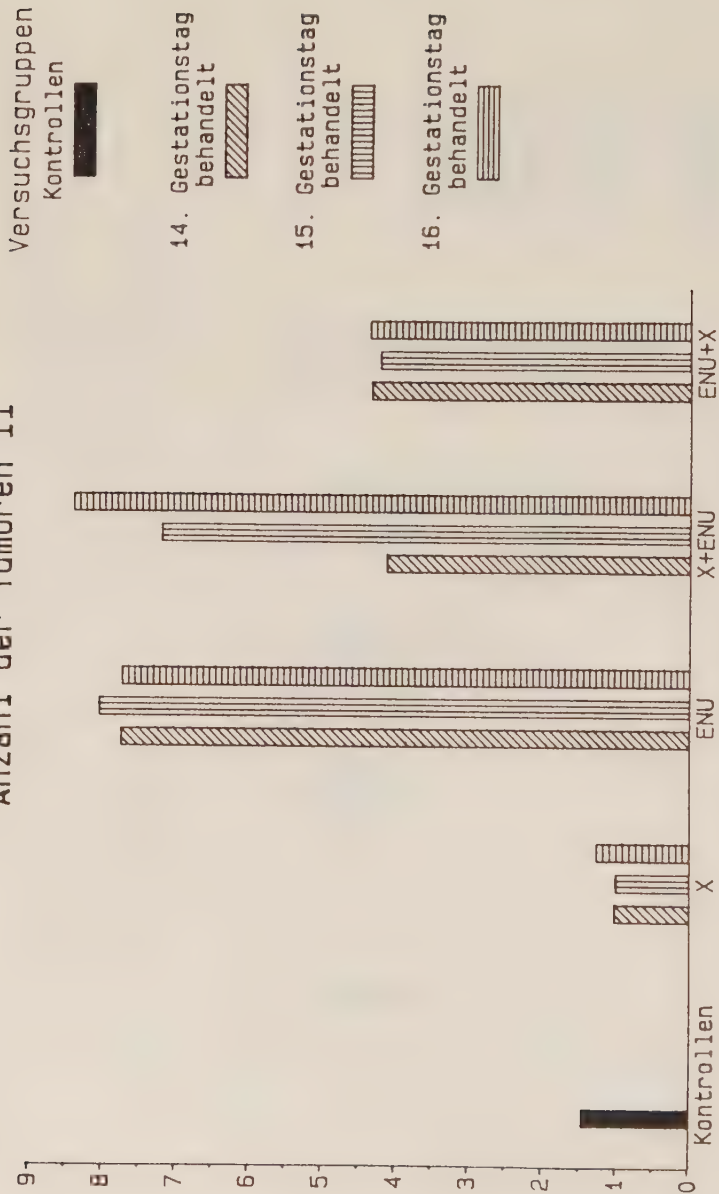


Abb. 11: Anzahl der Tumoren / Gesamtzahl der tumortragenden Tiere in den Versuchsgruppen

Tumoröse Erkrankungen II

Versuchsgruppen
Kontrollen

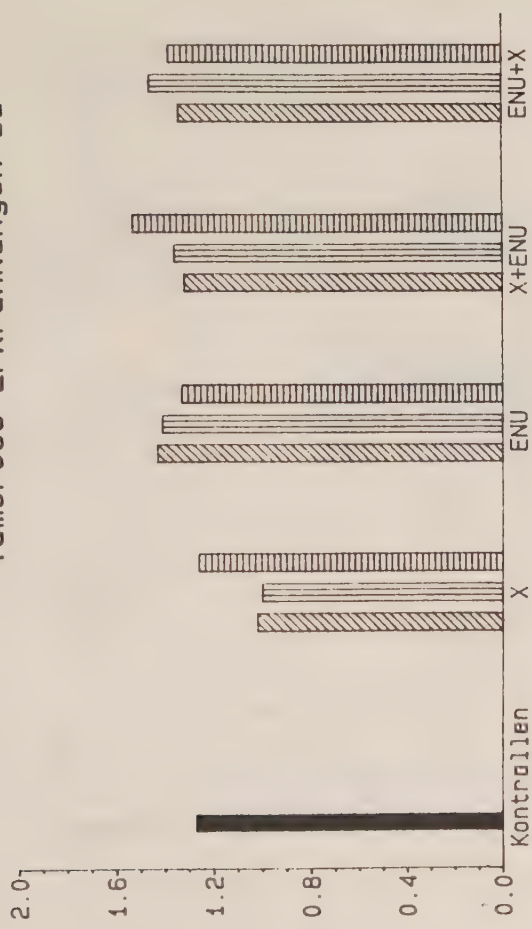


Abb. 12: Tumoröse Erkrankungen / Gesamtzahl der tumortragenden Tiere in den Versuchsgruppen

X14	p < 0,01	zur Kontrollgruppe	ENU16	p < 0,05	zu X+ENU16
X15	p < 0,01	zu X16	X+ENU15	p < 0,05	zu X+ENU16
X14	p < 0,001	zu ENU14			
X15	p < 0,001	zu ENU15			

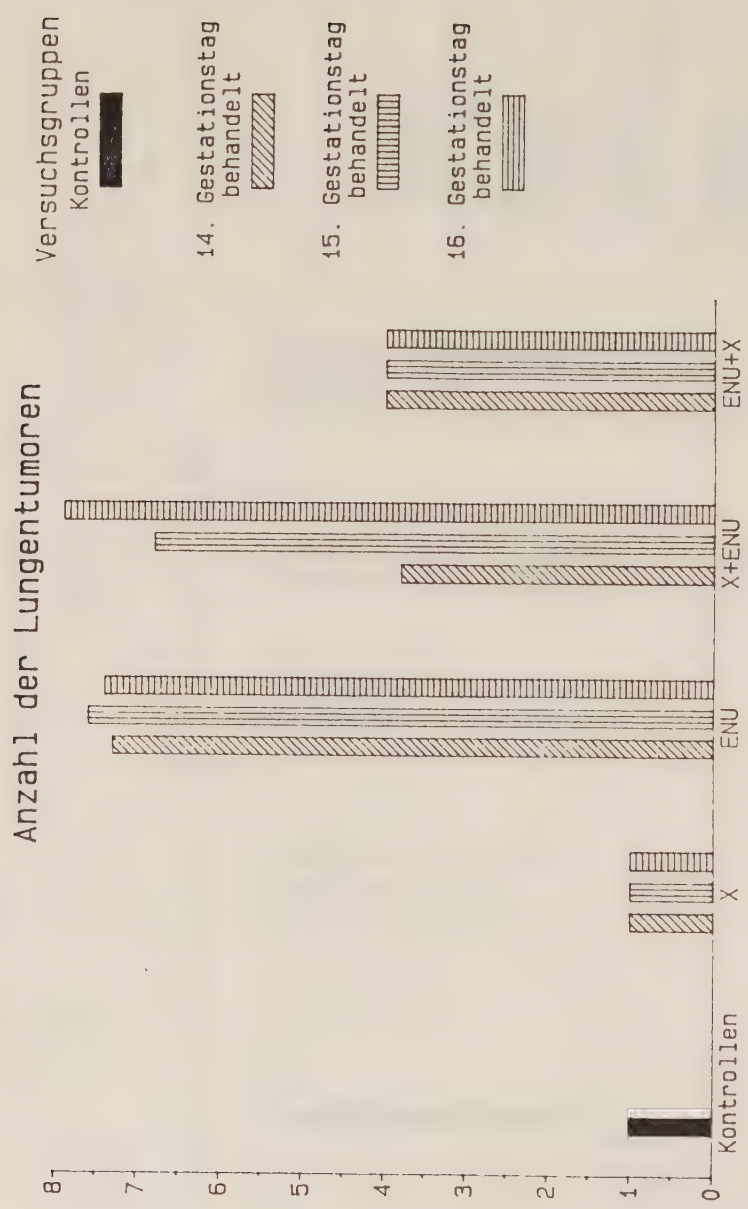


Abb. 13: Anzahl der Lungentumoren / Lungentumor-tragendes Tier



Abb. 14: Häufigkeit der Leukosen in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

X14	p < 0,001	zur Kontrollgruppe	X14	p < 0,001	zu ENU14
X15	p < 0,001	zur Kontrollgruppe	X15	p < 0,05	zu ENU15
X16	p < 0,001	zur Kontrollgruppe	X+ENU bzw. ENU+X	p < 0,05 bzw. p < 0,01	zur Kontrollgruppe
ENU14	p < 0,05	zur Kontrollgruppe			
ENU15	p < 0,01	zur Kontrollgruppe			
ENU16	p < 0,01	zur Kontrollgruppe			

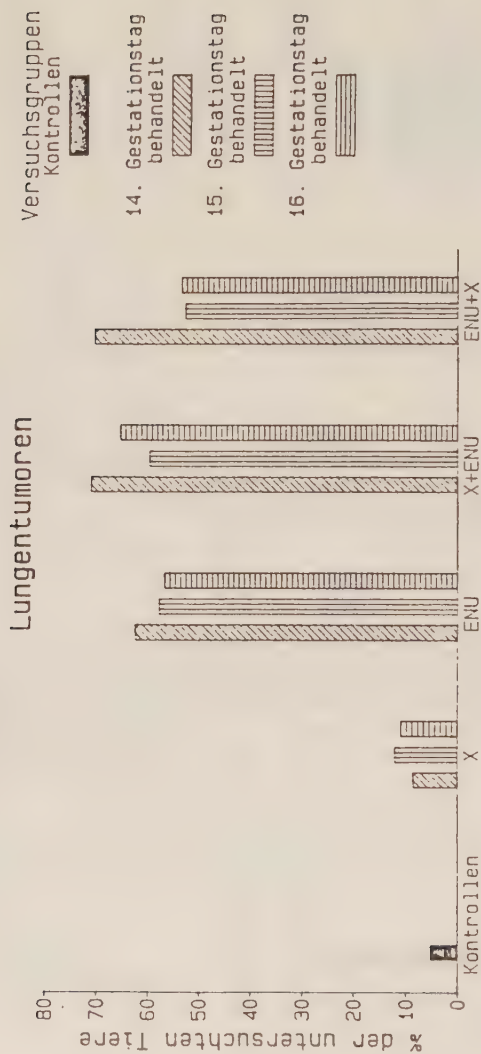


Abb. 15: Häufigkeit der Lungentumoren in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

Kontrollgruppe	p < 0,05	zu X15	ENU+X16	p < 0,05	zu X+ENU16
Kontrollgruppe	p < 0,05	zu X16	X		zu X + ENU
X14	p < 0,001	zu ENU14	bzw.		bzw.
X15	p < 0,001	zu ENU15	Kontrollgruppe	p < 0,001	ENU + X
X16	p < 0,001	zu ENU16			

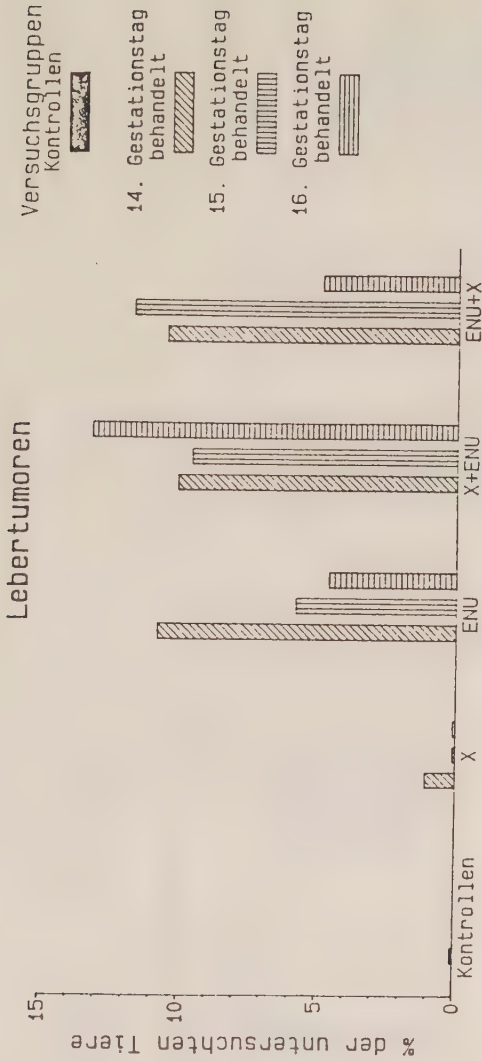


Abb. 16: Häufigkeit der Lebertumoren in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

X14	p < 0,001	zu ENU14	ENU16	p < 0,01	zu X+ENU16
X15	p < 0,01	zu ENU15	ENU+X16	p < 0,01	zu X+ENU16
X16	p < 0,01	zu ENU16	ENU+X16	p < 0,05	zu ENU+X14
ENU16	p < 0,05	zu ENU14	ENU+X16	p < 0,05	zu ENU+X15
ENU15	p < 0,05	zu ENU14			

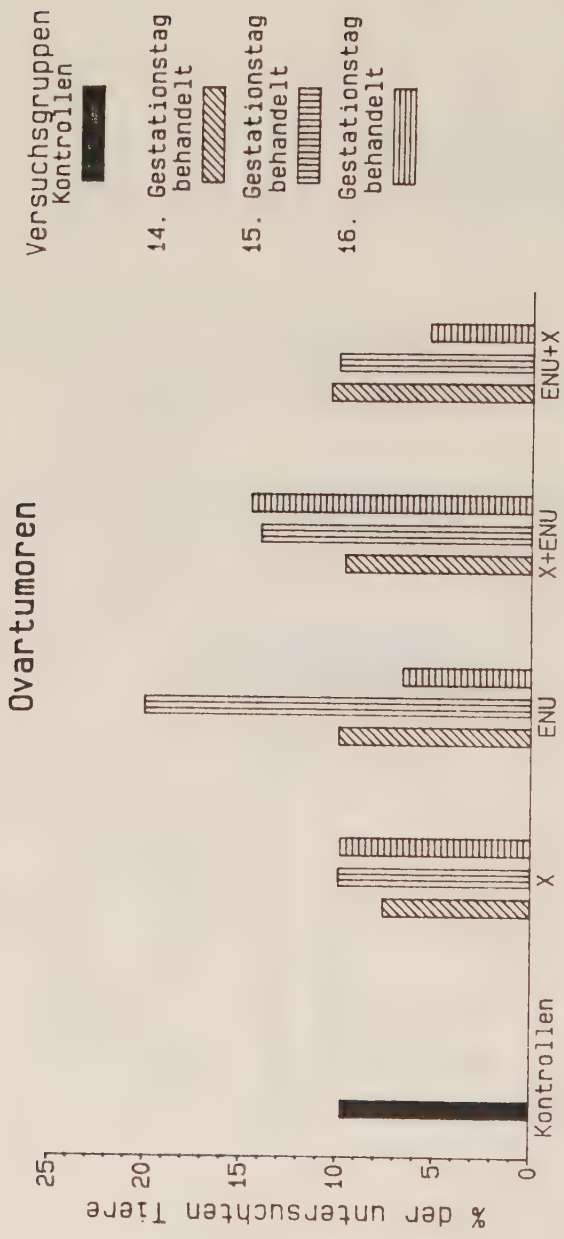


Abb. 17: Häufigkeit der Ovartumoren in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

Kontrollgruppe $p < 0,05$ zu ENU15
ENU+X16 $p < 0,05$ zu X+ENU16

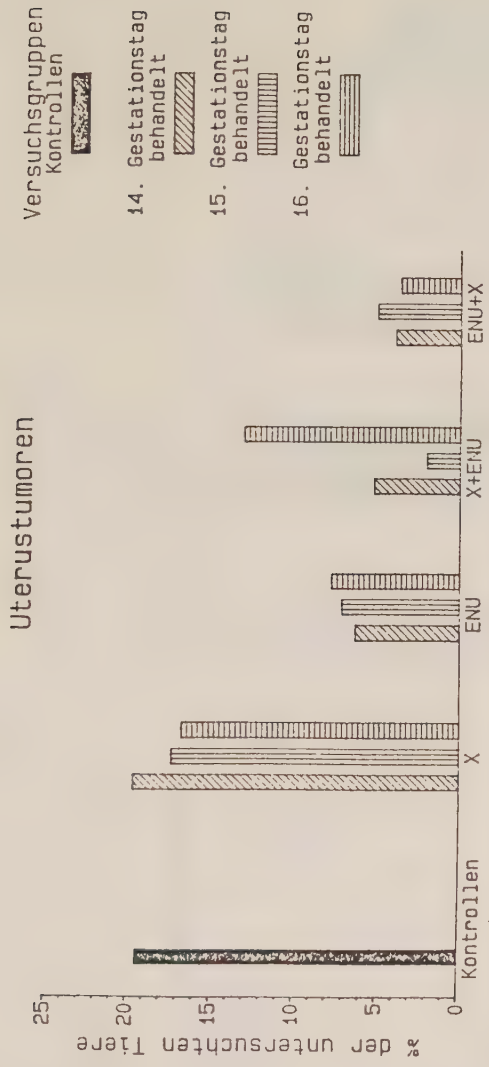


Abb. 18: Häufigkeit der Uterustumoren in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

ENU14	p < 0,001	zur Kontrollgruppe	ENU+X16	p < 0,001	zu X+ENU16
ENU15	p < 0,05	zur Kontrollgruppe	X+ENU14,15 bzw. ENU+X14,15,16	p < 0,01 bzw. p < 0,05	zu X14,15,16 bzw. Kontrollgruppe
ENU16	p < 0,05	zur Kontrollgruppe			
ENU14	p < 0,01	zu X14			
ENU15	p < 0,05	zu X15			

Hämangiosarkome

Versuchsgruppen
Kontrollen



14. Gestationstag
behandelt



15. Gestationstag
behandelt



16. Gestationstag
behandelt

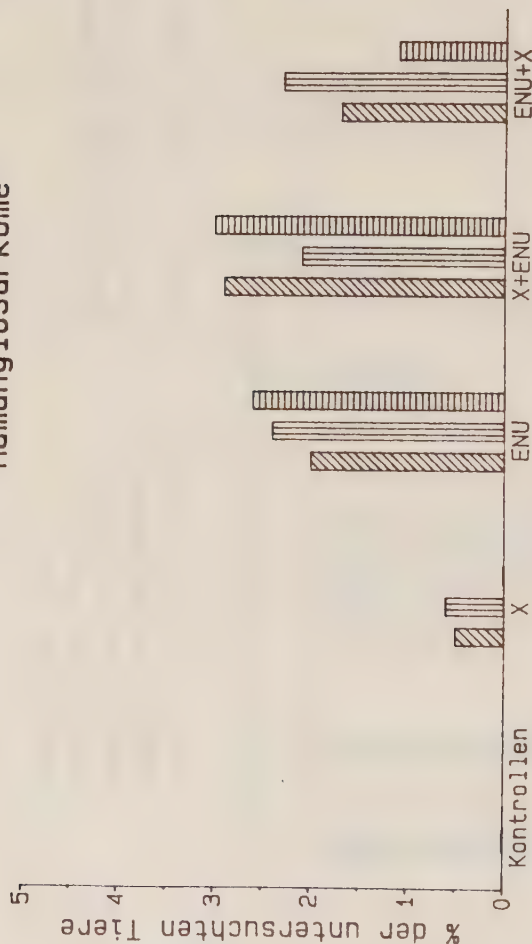


Abb. 19: Häufigkeit der Hämangiosarkome in den Versuchsgruppen (Gesamtergebnis)

Kontrollgruppe
bzw.
X16

$p < 0,05$ zu ENU16

Kontrollgruppe
bzw.
X16

$p < 0,05$ zu X+ENU16

10. Literaturverzeichnis

- Argyris T.S.: Epidermal tumor promotion by regeneration.
In: Hecker et al.(eds.): Carcinogenesis, Vol. 7, Raven
Press, New York, 43-48 (1984)
- Barnes D.W.H., Carr T.E.F., Evans E.P., Loutit J.F.: Stron-
tium 90-induced osteosarcomas in radiation chimaeras.
Int. J. Radiat. Biol. 18, 531-537 (1970)
- Baserga R.: Molecular biology of the cell cycle. Int. J.
Radiat. Biol. 49, 219-226 (1986)
- Benjamin S.A., Brooks A.L., McClellan R.O.: Biological effec-
tiveness of Pu 239, Ce 144 and Sr 90 citrate in producing
chromosome damage, bone related tumors, liver tumors
and life shortening in the Chinese hamster. IAEA,
202, 411- (1968)
- Benjamin S.A., Hahn F.F., Chiffelle T.L., Boecker B.B.,
Hobbs C.H., Jones R.K., McClellan R.O., Snipes M.B.:
Occurrence of hemangiosarcomas in beagles with internally
deposited radionuclides. Cancer Res. 35, 1745-1755 (1975)
- Benjamin S.A., Angleton G.M.: Hematopoietic neoplasms and
related disorders in beagles irradiated during development.
Rad. Res. 87, 505- (1981)
- Berenblum J., Trainin N.: Possible two-stage mechanism in
experimental leukemogenesis in mice. Science 132, 40-41
(1960)
- Berenblum J., Trainin N.: New evidence on the mechanism
of radiation leukemogenesis. In: Harris R.J.C. (ed.):
Cellular basis and aetiology of late somatic effects
of ionizing radiation, Academic Press, London, 41-56
(1963)

Bergonie J., Tribondeau L.: Action de rayon X sur le testicule. Arch. Elect. med. 14, 779-823, 874 et 911 (1906)

Bertram J.S., Heidelberger C.: Cell cycle dependency of oncogenic transformation induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in culture. Cancer Res. 34, 526-537 (1974)

Bland M.R., Carr T.E.F., Loutit J.F., Sansom J.M.: Tumors induced by Sr 90 in normal and chimaerical CBA/H mice. In: Second international conference on strontium metabolism, Glasgow and Strontian, 16.-19. Aug. 1972, SMCONF (1972)

Boecker B.B., Cuddihy R.G.: Toxicity of ^{144}Ce inhaled as $^{144}\text{CeCl}_3$ by the beagle: Metabolism and dosimetry. Rad. Res. 60, 133-154 (1974)

Borek C., Sachs L.: Cell susceptibility of transformation by X-irradiation and fixation of the transformed state. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 57, 1522-1527 (1967)

Bosch D.A.: Short and long term effects of methyl- and ethylnitrosourea (MNU and ENU) on the developing nervous system of the rat. Acta Neurol. Scandinav. 55, 106-122 (1977)

Boyland E.: The correlation of experimental carcinogenesis and cancer in man. Prog. Exp. Tumor Res. (Basel) 11, 222-234 (1969)

Brent R.L.: The indirect effect of irradiation on rat embryo. Am. J. Dis. Child. 93, 7-8 (1957)

Brent R.L., Bolden B.T.: The long-term effects of low dosage embryonic irradiation. Rad. Res. 14, 453- (1968)

Bridges B.A., Huckle J.: Mutagenesis of cultered mammalian cells by X-irradiation and UV-light. Mutation Res. 10, 141-151 (1970)

Bundesregierung (BRD): Unterrichtung durch die Bundesregierung. Bericht über die Anwendung und die Auswirkungen des Chemikaliengesetzes, Drucksache 10/5007 (05.02.1986)

Chang M.J.W., Koestner A.: Interrelationships between cellular proliferation, DNA alkylolation and age as determinants of ethylnitrosourea-induced neoplasia. Cancer Letters 13, 39-45 (1981)

Cardesa A., Pour P., Althoff J., Mohr U.: Vascular tumors in female Swiss mice after intraperitoneal injection of dimethylnitrosamine. J. Natl. Cancer Inst. 51, 201-208 (1973)

Casarett G.W., Tuttle L.W., Baxter R.C.: Pathology of imbibed Sr 90 in rats and monkeys. In: Dougherty T.F. (ed.): Some aspects of internal irradiation, Pergamon Press, Oxford, 329- 336 (1962)

ChemG: Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen (Chemikaliengesetz), BGBl. I, 1718- (16.09.1980)

Chen T.T., Heidelberger C.: In vitro malignant transformation of cells derived from mouse prostate in the presence of 3-methylcholanthrene. J. Natl. Cancer Inst. 42, 915-925 (1969)

Chernozemski J.N., Warnick G.P.: Liver regeneration and induction of hepatomas in B6AF mice by urethane. Cancer Res. 30, 2685-2690 (1970)

Chu E.H.Y., Malling H.V.: Mammalian cell genetics. II. Chemical induction of specific locus mutations in Chinese hamster cells in vitro. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 61, 1306-1312 (1968)

Clapp N.K., Craig A.W., Toya R.E.: Pulmonary and hepatic oncogenesis during treatment of male RF mice with dimethylnitrosamine. J. Natl. Cancer Inst. 41, 1213-1227 (1968)

Clapp N.K., Toya R.E.: Effect of cumulative dose and dose rate on dimethylnitrosamine oncogenesis in RF mice. J. Natl. Cancer Inst. 45, 495-498 (1970)

Clapp N.K., Tyndall R.L., Otten J.A.: Differences in tumor types and organ susceptibility in BALB/c and RF mice following dimethylnitrosamine and diethylnitrosamine. Cancer Res. 31, 196-198 (1971)

Cole L.J., Foley W.A.: Modification of urethane lung tumor incidence by low X-irradiation dosis, cortisone, and transfusion of isogenic lymphocytes. Rad. Res. 39, 391-399 (1969)

Craddock V.M., Henderson A.R.: Repair and replication of DNA in rat brain and liver during foetal and postnatal development, in relation to nitroso-alkyl-urea induced carcinogenesis. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 108, 30-35 (1984)

Delbrück H.G., Allouche M., Jasmin C., Morin M., Deml F., Anghileri L., Masse R., Lafuma J.: Bone tumors induced in rats with radioactive cerium. Br. J. Cancer 41, 809-815 (1980)

Denekamp J.: Cell kinetics and radiation biology. Int.J. Radiat. Biol. 49, 357-380 (1986)

- Den Engelse L., Hollander C.F., Misdorp W.: A sex-dependent difference in the type of tumors induced by dimethylnitrosamine in the livers of C3Hf mice. *Europ. J. Cancer* 10, 129-135 (1974)
- Dewey W.C., Stone L.E., Miller H.H., Gibrak R.E.: Radio-sensitization with 5-Bromodeoxyuridine of Chinese hamster cells X-irradiated during different phases of the cell cycle. *Rad. Res.* 47, 672-688 (1971)
- Di Paolo J.A., Donovan P.J., Popescu N.C.: Kinetics of Syrian hamster cells during X-irradiation enhancement of transformation in vitro by chemical carcinogen. *Rad. Res.* 66, 310-325 (1976)
- Diwan B.A., Meier H.: Strain- and age- dependent transplacental carcinogenesis by 1-ethyl-1-nitrosourea in inbred strains of mice. *Cancer Res.* 34, 764-770 (1974)
- Dougherty T.F., Mays C.W.: Bone cancer induced by internally-deposited emitters in beagles. In: IAEA (eds.): Radiation induced cancer, Vienna, 228, 361-367 (1969)
- Dougherty T.F., Taylor G.N., Mays C.W.: Strontium-90 toxicity in adult beagles after acute exposure. In: Goldman M., Bustad L.K. (eds.): Biomedical implications of radiostrontium exposure, AEC-Symposium Series No.25 (CONF-710201), 259-274 (1972)
- Druckrey H., Ivankovic S., Preussmann R.: Teratogenic and cancerogenic effects in the offspring after single injection of ethylnitrosourea to pregnant rats. *Nature* 210, 1378-1379 (1966)
- Druckrey H., Preussmann R., Ivankovic S., Schmähl D.: Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten. *Z. Krebsforsch.* 69, 103-201 (1967)

- Druckrey H., Schagen B., Ivankovic S.: Erzeugung neurogener Malignome durch einmalige Gabe von Äthylnitrosoharnstoff an neugeborenen und jungen BDJX-Ratten. Z. Krebsforsch. 74, 141-161 (1970)
- Dungworth D.L., Goldman M., McKelvie D.A., Switzer J.W.: Development of a form of myelogenous leukemia in beagles exposed continuous to Sr 90. In: Clarke W.J., Howard E.B., Hackett P.L. (eds.): Myeloproliferative disorders of animals and man, AEC-Symposium Series No.19 (CONF-680529), 272-289 (1970)
- Eisenbrand G. (ed.): N-Nitroso-Verbindungen in der Nahrung und Umwelt, Wissenschaftliche Verlagsges. mbH, Stuttgart (1981)
- Finkel M.P., Biskis B.O., Scribner G.M.: The influence of strontium-90 upon life span and neoplasms of mice. In: Progress in nuclear energy, Series 4, Pergamon Press, London, 2, 199-209 (1959)
- Finkel M.P., Biskis B.O., Greco J.O., Camden R.W.: Sr 90 toxicity in dogs. Status of Argonne study on influence of age and dose pattern. In: Goldman M., Bustad L. (eds.): Biomedical implications of radiostrontium exposure, Conference ZONF 710201, Oak Ridge, 285-308 (1972)
- Fritz T.E., Norris W.P., Rehfeld C.E., Poole C.M.: Myeloproliferative disease in beagle dogs given protracted whole body irradiation or single doses of Ce 144. In: Clarke W.J., Howard E.B., Hackett P.L. (eds.): Myeloproliferative disorders of animals and man, AEC-Symposium Series No.19 (CONF- 680529), 219-241 (1970)
- Fritz-Niggli H.: Die Bedeutung des Repairsystems für die relative biologische Wirksamkeit von Strahlen verschiedener Qualität; eine Zwei-System-Theorie. Strahlentherapie 135, 202-212 (1968)

Fujiwara H.: Cytotoxic effects of ethylnitrosourea on central nervous system of rat embryos. Special references to carcinogenesis and teratogenesis. Acta Pathol. Jpn. 30, 375-387 (1980)

Gerber G.B.: Interactions: Dose effect relationships and isoeffect curves. Radiat. Environ. Biophys. 20, 235-243 (1982)

Goedblood J.F.: Embryonic and postnatal growth of the rat and mouse. 6.) Prenatal growth of organs and tissues, individual organs, final remarks on parts 1.) - 6.), phase transitions. Acta anat. 106, 108-128 (1980)

Goth R., Rajewsky M.F.: Ethylation of nucleic acids by ethylnitrosourea-1-C14 in the fetal and adult rat. Cancer Res. 32, 1501-1505 (1972)

Goth R., Rajewsky M.F.: Molecular and cellular mechanisms associated with pulse-carcinogenesis in the rat nervous system by ethylnitrosourea: Ethylation of nucleic acids and elimination rates of ethylated bases from the DNA of different tissues. Z. Krebsforsch. 82, 37-64 (1974)

Hahn F.F., Benjamin S.A., Boecker B.B., Chiffelle T.L., Hobbs C.H., Jones R.K., McClellan R.O., Pickrell J.A., Redmann H.C.: Primary pulmonary neoplasms in beagle dogs exposed to aerosols of Ce 144 in fused-clay particles. J.Natl. Cancer Inst. 50, 675- 698 (1973)

Hahn F.F., Lundgren D.L., McClellan R.O.: Repeated inhalation exposure of mice to Ce 144 O₂. II. Biological effects. Rad. Res. 82, 123-137 (1980)

Herrold K.: Histogenesis of malignant liver tumors induced by dimethylnitrosamine. An experimental study in Syrian hamsters. J. Natl. Cancer Inst. 39, 1099-1111 (1967)

- Howard A., Pelc S.R.: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity* 6, 261-273 (1953)
- Hug O., Kellerer A., Zuppinger A.: Strahlenbiologie. In: Zuppinger A. (ed.): *Handbuch der medizinischen Radiologie*, Band II, Teil 1, Springer Verlag, 271-354 (1966)
- Iljin L.A., Knizhnikov V.A. (eds.): Hygienic problems of radiation and chemical carcinogenesis, Moscow Inst. of Biophysics (1979)
- Ivankovic S.: Pränatale Carcinogenese. In: Altmann H.W., Büchner F., usw. (eds.): *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Springer Verlag, 941-997 (1975)
- Jänisch W., Schmidt Th.: Tumorinduktion bei spanischen Rippenmolchen (*Pleurodeles waltlii*) durch Alkylnitrosoharnstoffe. *Arch. Geschwulstforsch.* 50, 253-265 (1980)
- Junkmann N.: Vortrag, gehalten am 7.1.1932 im wissenschaftlichen Colloquium der Schering-Kahlbaum A.G., Berlin, *Med. Mitt.*, H.2. (1932)
- Kakunga T.: The role of cell division in the malignant transformation of mouse cells treated with 3-methylcholanthrene. *Cancer Res.* 35, 1637-1642 (1975)
- Kalter H., Mandybur T.J.: Dose-related reduction by prenatal X-irradiation of the transplacental neurocarcinogenicity of ethylnitrosourea in rats. *Cancer Res.* 40, 3973-3976 (1980)
- Kaplan H.S.: Influence of age on susceptibility of mice to the development of lymphoid tumors after irradiation. *J. Natl. Cancer Inst.* 9, 55-56 (1948)

- Kaplan H.S.: Fundamental mechanisms in combined modality therapy of cancer. Am. J. Roentgenol. 129, 383-393 (1977)
- Kauffmann S.L.: Lengthening of the generation cycle during embryonic differentiation of the mouse neural tube. Exp. Cell. Res. 49, 420-424 (1968)
- Kauffmann S.L.: Suceptibility of fetal lung to transplacental 1-ethyl-1-nitrosoourea: Its relation to epithelial proliferation. J. Natl. Cancer Inst. 57, 821-825 (1976)
- Kawamoto S., Ida N., Kirschbaum A., Taylor A.: Urethan and leukemogenesis in mice. Cancer Res. 18, 725-729 (1958)
- Kennedy A.R., Mondal S., Heidelberger C., Little J.B.: Enhancement of X-ray transformation by 12-o-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetate in a cloned line of C3H mouse embryo cells. Cancer Res. 38, 439-443 (1978)
- Ketkar M.B., Mohr U., Lijinsky W.: The carcinogenic effect of 1,1-Diethyl-3-Methyl-3-Nitrosoourea in Syrian golden hamsters. Cancer Letters 23, 177-182 (1984)
- Klein B., Pals S., Masse R., Lafuma J. Morin M.: Studies of bone and soft-tissue tumors induced in rats with radioactive cerium chloride. Int. J. Cancer 20, 112-119 (1977)
- Knowles J.F.: The effect of X-radiation given after neonatal administration of ethylnitrosoourea on incidence of induced nervous system tumors. Neuropathology and Applied Neurobiology 8, 265-276 (1982)
- Knowles J.F.: Reduction of N-Nitroso-N-ethylurea-induced neurogenic tumors by X-radiation: A life-span-study in rats. J. Natl. Cancer Inst. 72, 133-137 (1984)

- König K., Baisch H.: DNA synthesis and cell cycle progression of synchronized L-cells after irradiation in various phases of the cell cycle. *Radiat. Environ. Biophys.* 18, 257-266 (1980)
- Konermann G.: Die Keimesentwicklung der Maus nach Einwirkung kontinuierlicher Co 60-Gammabestrahlung während der Blastogenese, der Organogenese und der Fetalperiode. *Strahlentherapie* 137, 451-466 (1969)
- Konermann G.: Somatische Strahlenwirkungen. *Atomkernenergie* 28, 3-21 (1976)
- Kriegel H., Schmahl W.: Strukturveränderungen im ZNS nach pränataler Strahlenexposition und deren Bedeutung für regenerative und neoplastische Prozesse. In: Ladner H.A. usw. (eds.): 25 Jahre medizinischer Strahlenschutz, Thieme Verlag, 10-18 (1985)
- Kusma T., Yoshizawa Y.: The carcinogenic effects of fetal and postnatal radiation in female mice. *J. Radiat. Res.* 23, 290-297 (1982)
- Kusama T., Yoshizawa Y.: Embryonic effects on mice of radiation in combination with adrenocortical hormone. *J. Radiat. Res.* 24, 17- (1983)
- Kusama T., Yoshizawa Y.: The synergistic effects of radiation and caffeine on embryonic development in mice. *J. Radiat. Res.* 25, 225-233 (1984)
- Leenhouts H.P., Chadwick K.H.: Interaction of chemical mutagens and radiation in the induction of malignancy. In: IAEA (eds.): Late biological effects of ionizing radiation, 224, 409-422 (1978)
- Li L.H., Olin E.J., Fraser T.J., Bhuyan B.K.: Phase-specificity of 5-azacytidine against mammalian cells in tissue culture. *Cancer Res.* 30, 2770-2775 (1970)

- Lijinsky W., Reuber M.D., Blackwell B.N.: Carcinogenicity of Nitrosotrialkylureas in Fischer 344 rats. J. Natl. Cancer Inst. 65, 451-453 (1980)
- Lijinsky W., Reuber M.D.: Carcinogenesis in rats by Nitrosodimethylamine and other Nitrosomethylalkylamines at low doses. Cancer Letters 22, 83-88 (1984)
- Lindahl T.: DNA repair enzymes. Ann. Rev. Biochem. 51, 61-87 (1982)
- Little J.B., Williams J.R.: Effects of ionizing radiation on mammalian cells. In: Geiger S.R., Falk H.L., Murphy S.D., Lee D.H.K. (eds.): Handbook of Physiology, American Physiological Society, Bethesda, 127-155 (1977)
- Loewe S.: Die quantitativen Probleme der Pharmakologie. Ergebn. Physiol. 27, 47-187 (1928)
- Lord B.J.: Controls in the cell cycle. Int. J. Radiat. Biol. 49, 279-296 (1986)
- Loutit J.F.: Vasoformative non-osteogenic (angio)sarcomas of bone-marrow stroma due to strontium-90. Int. J. Radiat. Biol. 30, 359-383 (1976)
- Margison G.P., O'Connor P.J.: Nucleic acid modification by N-nitroso compounds. In: Grover P.L. (ed.): Chemical carcinogens and DNA, CRC Press, Vol. 1, 112-159 (1979)
- McClellan R.O., Boecker R.B., Jones R.K.: Toxicity of inhaled radiostrontium in experimental animals. In: Goldman M., Bustad L. (eds.): Biomedical implications of radiostrontium exposure, Conference ZONF 710201, Oak Ridge, 149-166 (1972)
- Molls M., Pon A., Streffer C.: The effects of lead and X-rays, alone or in combination, on blastocysts formation and cell kinetics of pre-implantation mouse embryos in vitro. Int. J. Radiat. Biol. 43, 57-67 (1983)

Müller W.U., Streffer C.: Beeinflussung des Strahlenrisikos für Mäuseembryonen der Präimplantationsphase in vitro durch Aktinomycin D oder Ethidiumbromid. Strahlentherapie 158, 630-636 (1982a)

Müller W.U., Streffer C., Kaiser U.: The combined treatment of pre-implantation mouse embryos in vitro with cadmium and X-rays. Arch. Toxicol. 51, 303-312 (1982b)

Müller W.K., Streffer C.: Combined effects after exposure during the pre-implantation period. In: EURATOM (eds.): Effects of prenatal irradiation with special emphasis on late effects, EUR-8067, 49-60 (1984)

Myers D.K.: Effects of X-radiation and urethane on survival and tumor induction in three strains of rats. Radiat. Res. 65, 292-303 (1976)

Myers D.K., Peterson M.C., Gentner N.E.: DNA-repair and the assessment of biological hazards of ionizing radiation. In: JAEA (eds.): Late biological effects of ionizing radiation, IAEA-SM, 224, 447-461 (1978)

Nagasawa H., Robertson J.B., Arundel C.S., Little J.B.: The effect of X-irradiation on the progression of mouse 10 T 0.5 cells released from density-inhibited cultures. Rad. Res. 97, 537-545 (1984)

Nash D.J., Gowen J.W.: Effects of X-irradiation upon post-natal growth in the mouse. Biol. Bull. 122, 115-136 (1962)

Nilsson A.: Pathologic effects of different doses of Sr 90 in mice. Development of carcinomas in the membranes of the head. Acta Radiol. 7, 27-41 (1968)

Nilsson A.: Pathologic effects of different doses of radiostrontium in mice. Dose-effect relationship in Sr 90 induced bone tumors. Acta Radiol. 9, 155-176 (1970)

- Nomura T.: Sensitivity of a lung cell in the developing mouse embryo to tumor induction by urethane. *Cancer Res.* 34, 3363-3372 (1974)
- Nomura T.: Induction of persistent hypersensitivity to lung tumorigenesis by in utero X-irradiation in mice. *Environmental Mutagenesis* 6, 33-40 (1984)
- Norman N.A., Bruce N.W.: Fetal and placental weight relationships in the rat at days 13 and 17 of gestation. *J. Reprod. Fert.* 57, 345-348 (1979)
- Okada S.: In: Altman K.J., Gerber G.B., Okada S.(eds.): *Radiation biochemistry*, Vol 1, Cells, Academic Press, New York, 190-239 (1970)
- Otsuka H., Kuwahara A.: Hemangiomatous lesions of mice treated with nitrosodimethylamine. *Gann* 62, 147-156 (1971)
- Pegg A.E., Wiest L.: Purification and properties of O6-methylguanine-DNA-transmethylase from the rat liver. *J. Biol. Chem.* 258, 2327-2333 (1983)
- Pegg A.E.: Properties of the O6-alkylguanine-DNA-repair system of mammalian cells. In: O'Neill J.K. (ed.): *N-Nitroso compounds: Occurrence, biological effects and relevance to human cancer*, JARC, No. 57, 575-580 (1984)
- Peters V.B., Kelly G.W.: Cytolytic changes in fetal and neonatal hepatic cells of the mouse. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 111, 87-103 (1963)
- Phillips T.L.: Chemical modification of radiation effects. *Cancer* 39, 987-999 (1977)

Plant J.E., Roberts J.J.: Extension of the pre-DNA synthetic phase of the cell cycle as a consequence of DNA alkylation in Chinese hamster cells: A possible mechanism of DNA-repair. *Chem.-Biol. Interactions* 3, 343-351 (1971)

Pour P., Krüger F.W., Althoff J., Cardesa A., Mohr U.:
Effect of beta-oxidized nitrosamines on Syrian hamsters.
III. 2,2-Dihydroxy-di-n-propylnitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.* 54, 141-146 (1975)

Pour P., Salmasi S., Runge R., Gingell R., Wallcave L., Nagel D., Stephan K.: Carcinogenicity of N-Nitrosobis(2-hydroxy-propyl)amine and N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine in MRC rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 63, 181-190 (1979)

Rajewsky M.F.: Chemical carcinogenesis in the developing nervous system. In: Santi L., Zardi L. (eds.): *Theories and models in cellular transformation*, Academic Press, New York, 155-171 (1985)

Rao M.S., Reddy J.K.: Induction of malignant vascular tumors of the liver in guinea pigs treated with 2,2-Dihydroxy-di-n-propylnitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.* 58, 387-392 (1977)

Rao M.S., Reddy J.K.: Pathology of tumors developed in Guinea pigs given intraperitoneal injections of N-methyl-N-nitrosourea. *Neoplasma* 24, 57-62 (1977)

Rice J.M.: Transplacental carcinogenesis in mice by 1-ethyl-1-nitrosourea. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 163, 813-827 (1969)

Rice M.: The biological behaviour of transplacentally induced tumors in mice. In: Tomatis L., Mohr U. (eds.): *Transplacental carcinogenesis*, JARC, No. 4, 14-22 (1973)

- Rossi L., Mollner T.: Induction of tumors by direct injection of N-ethyl-N-nitrosourea into the amniotic space of the mouse fetus. J. Natl. Cancer. Inst. 63, 987-989 (1979)
- Rugh R., Duhamel L., Skaredoff L.: Relation of embryonic and fetal X-irradiation to life time average weights and tumor incidence in mice. Pro. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 714-718 (1966)
- Russell L.B.: X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. I. External and gross visceral changes. J. Exp. Zool. 114, 545-601 (1950)
- Sano T., Kawachi T., Matsukura N.: Comparison of carcinogenicity of N-alkyl-N-nitro-N-nitrosoguanidines. Gann 69, 277-279 (1978)
- Sasaki S., Kasuga T.: Late effects of fetal mice X-irradiated at middle or late intrauterine stage. Gann 69, 167-177 (1978)
- Scherf H.R.: Untersuchungen an männlichen Sprague-Dawley-Ratten über Zusammenhänge zwischen der immunsuppressiven und carcinogenen Wirkung bei 4 N-Nitroso-Verbindungen. Z. Krebsforsch. 77, 189-193 (1972)
- Schmahl W., Kriegel H.: Oncogenic properties of transplantally acting Ethylnitrosourea in NMRI-mice after antecedent X-irradiation. Z. Krebsforsch. 91, 60-70 (1978)
- Schmahl W.: Different teratogenic efficacy to mouse fetal CNS of 5-azacytidine in combination with X-irradiation depends on the sequence of successive application. Teratology 19, 63-70 (1979)

- Schmahl W.: Kinetics of telencephalic neural cell proliferation during the fetal regeneration period following a single X-irradiation at the late organogenesis stage. I. Sequential study of cell kinetics during the phase of acute events. *Radiat. Environ. Biophys.* 21, 19-31 (1982)
- Schmahl W.: Kinetics of telencephalic neural cell proliferation during the fetal regeneration period following a single X-irradiation at the late organogenesis stage. II. Cycle times and the size of the functional compartment of neural epithelial cells of distinct lesion districts. *Radiat. Environ. Biophys.* 22, 95-115 (1983)
- Schmahl W., Kriegel H.: Correlations between the degree and type of forebrain malformations and the simultaneous neuro-oncogenic properties of ethylnitrosourea after diaplacental exposure in rats, alone and in combination with X-irradiation. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 5, 159-175 (1985)
- Seifertova M., Vesely J., Sorm F.: Effect of 5-azacytidine on developing mouse embryo. *Experimenta* 24, 487-488 (1968)
- Seifertova M., Cihak A., Vesely J.: Effect of 5-azacytidine and 6-azauridine on the syntesis of DNA in embryonic mouse brain. Mitotic activity and migration of ventricular cells. *Neoplasma* 20, 243-249 (1973)
- Setlow R.B.: Enzymatology of repair of DNA adducts produced by N-Nitroso-compounds. In: O'Neill J.K. (ed.): *N-Nitroso-compounds: Occurrence, biological effects and relevance to human cancer*, JARC, No. 57, 575-580 (1984)
- Shimosato Y., Tanaka N., Kogure K.: Histopathology of tumors of canine alimentary tract produced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, with particular reference to gastric carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 47, 1053-1070 (1971)

- Shinohara Y., Arai M., Hirao K.: Combination effect of citrinin and other chemicals on rat kidney tumorigenesis. *Gann* 67, 147-155 (1976)
- Sikov M.R., Malhum D.D.: Effects on the rat embryo of combined exposure to Pu 239 and Trypan Blue. In: BNWL-1850 Pt. 1, 9-10 (1974)
- Sikov M.R.: Carcinogenesis following prenatal exposure to radiation. *Biol. Res. in Preg.* 2, 159-167 (1981)
- Sinclair W.K.: Cyclic X-ray responses in mammalian cells in vitro. *Rad. Res.* 33, 620-643 (1968)
- Solheim O.P.: Development of osteosarcoma in rats after irradiation. *Acta Radiol. Th. Phys. Biol.* 16, 433-446 (1977)
- Steel G.G., Peckham M.J.: Exploitable mechanisms in combined radiotherapy - chemotherapy: The concept of additivity. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 5, 85-91 (1979)
- Streffer C., Müller W.U.: Radiation risk from combined exposures to ionizing radiations and chemicals. In: Lett J.T. (ed.): *Adv. in Radiat. Biol.*, Academic Press, New York, 11, 173-210 (1984)
- Swann P.F., Magee P.N.: Nitrosamine-induced carcinogenesis. The alkylation of N-7 of guanine of nucleic acids of the rat by diethylnitrosamine, N-ethyl-N-nitrosourea and ethylmethane sulphate. *Biochemical Journal* 125, 841-847 (1971)
- Takahashi M., Furukawa F., Kurata Y.: Vascular tumors of the spleen and other neoplasms induced in Syrian golden hamsters by 1-propyl-1-nitrosourea. *Gann* 73, 695-703 (1982)
- Takayama S., Oota K.: Induction of malignant tumors in various strains of mice by oral administration of N-Nitrosodimethylamine and N-Nitrosodiethylamine. *Gann* 56, 189-199 (1965)

- Takayama S., Jmaizumi T.: Sequential effects of chemically different carcinogens, Dimethylnitrosamine and 4-Dimethylaminoazobenzene, on hepatocarcinogenesis in rats. Int. J. Cancer 4, 373-383 (1969)
- Tolmach L.J.: Growth patterns in X-irradiated HeLa cells. J. Ann. N.Y. Acad. Sci. 95, 743-757 (1961)
- Tolmach L.J., Weiss B.G.: Ionizing radiations and the cell cycle. Federation Proc. 30, 1742-1751 (1971)
- Upton A.C., Odell T.T.: Influence of age at time of irradiation on induction of leukemia and ovarian tumors in RF mice. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 104, 769-772 (1960)
- Upton A.C., Conklin J.W.: Influence of age at irradiation on susceptibility to radiation-induced life-shortening in RF mice. In: Lindop P.J., Sacher G.A. (eds.): Radiation and aging, Taylor and Francis Ltd., London, 337- (1966)
- UNSCEAR-Report: Ionizing radiation: Sources and biological effects, United Nations, New York (1982)
- Van Putten L.M., Vries M.J.: Strontium-90 toxicity in mice. J. Natl. Cancer Inst. 28, 587-603 (1962)
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N.: Significance of newborn age and dose of urethane in leukemogenesis. Cancer Res. 26, 1633-1637 (1966)
- Vesselinovitch S.D., Mihailovich N.: The effect of gonadectomy on the development of hepatomas induced by urethane. Cancer Res. 27, 1788-1791 (1967)
- Vesselinovitch S.D., Simmons E.L., Mihailovich N., Lombard L.S., Rao K.V.N.: Additive leukemogenicity of urethan and X-irradiation in infant and young adult mice. Cancer Res. 32, 222-225 (1972)

- Vesselinovitch S.D.: Comparative Studies on perinatal carcinogenesis. In: Tomatis L., Mohr U. (eds.): Transplacental carcinogenesis, JARC, No. 4, 14-22 (1973)
- Vesselinovitch S.D., Koka M., Rao K.V.N., Mihailovich N., Rice J.M.: Prenatal multicarcinogenesis by ethylnitrosourea in mice. Cancer Res. 37, 1822-1828 (1977)
- Vinores S.A., Perez-Polo J.R.: The effect of nerve growth factor and antibodies to nerve growth factor on ethylnitrosourea carcinogenesis in mice. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 98, 59-63 (1980)
- Warkany J., Mandybur T.J., Kalter H.: Oncogenic response of rats with X-ray-induced microcephaly to transplacental ethylnitrosourea. J. Natl. Cancer Inst. 56, 59-64 (1976)
- Watanabe M., Horikawa M., Nikaido O.: Induction of oncogenic transformation by low doses of X-rays and dose rate effect. Rad. Res. 98, 274-283 (1984)
- Wayss K., Bannasch P., Mattern J., Volm M.: Vascular liver tumors induced in Mastomys (Praomys) natalensis by single or twofold administration of dimethylnitrosamine. J. Natl. Cancer Inst. 62, 1199-1207 (1979)
- WHO: Prevention of cancer. Report of a WHO-Expert-Committee, Genf 1963, Technical Report Series Nr. 276, (1964)
- Wilson J.G., Karr J.W.: Effect of irradiation on the embryonic development. I. X-ray on the 10th day of gestation in the rat. Am. J. Anat. 88, 1-33 (1951)
- Wilson J.G., Jordan H.C.: Effects of irradiation on embryonic development. II. X-rays on the 9th day of gestation in the rat. Am. J. Anat. 93, 153-187 (1953)
- Yoshida A., Jqbal Z.M., Epstein S.S.: Hepatocarcinogenic effects of N-Nitroso-N-methylurea in Guinea pigs. Cancer Res. 37, 4043-4048 (1977)

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Schmahl, der die vorliegende Arbeit betreute und mit großem Entgegenkommen und hervorragender Unterstützung maßgeblich zum Gelingen beitrug.

Danken möchte ich ganz herzlich auch Frau Senft, Frau Steege und Frau Di Grazia für die freundliche Einweisung in die histologische Arbeitstechnik und die sorgfältige Betreuung des tierexperimentellen Teils der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Kriegel danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Dr. Kistner vom Bundesgesundheitsamt, Institut für Strahlenhygiene, möchte ich für das große Interesse, welches er meiner Arbeit zuteilkommen ließ, danken.

Weiterhin möchte ich mich auch bei Frau Zeitelberger und Frau Stemmer für die bereitwillige Unterstützung bei der Schreibarbeit von Tabellen und Text bedanken.

Nicht zuletzt sei auch meiner lieben Schwester Gaby für ihre stete Hilfe vielmals gedankt.

LEBENS LAUF

Name	Alfons Wiggerhauser	
geb. am	25.02.58	
in	Ellwangen/J.	
Staatsangehörigkeit	deutsch	
Schulbesuch	1964 - 1968	Grundschule in Schwabsberg
	1968 - 1977	Peutinger Gymnasium in Ellwangen/J.
	11.05.1977	Hochschulreife
Grundwehrdienst	01.07.1977 - 30.09.1978 beim Artillerie-Bataillon in Stadt Allendorf/Oberhessen	
Fachausbildung	WS 1978 - WS 1983	Studium der Tier- medizin an der Ludwig-Maximilians Universität in München
	23.11.1983	Staatsexamen
	20.03.1984	Approbation
derzeitige Tätigkeit	seit 01.05.1984	wissenschaftlicher Angestellter beim Bundesgesundheits- amt, Institut für Strahlenhygiene in Neuherberg/Mchn.

